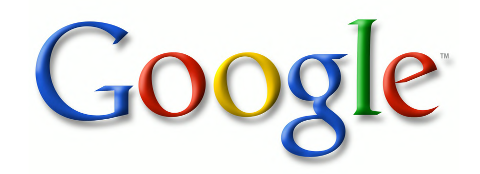
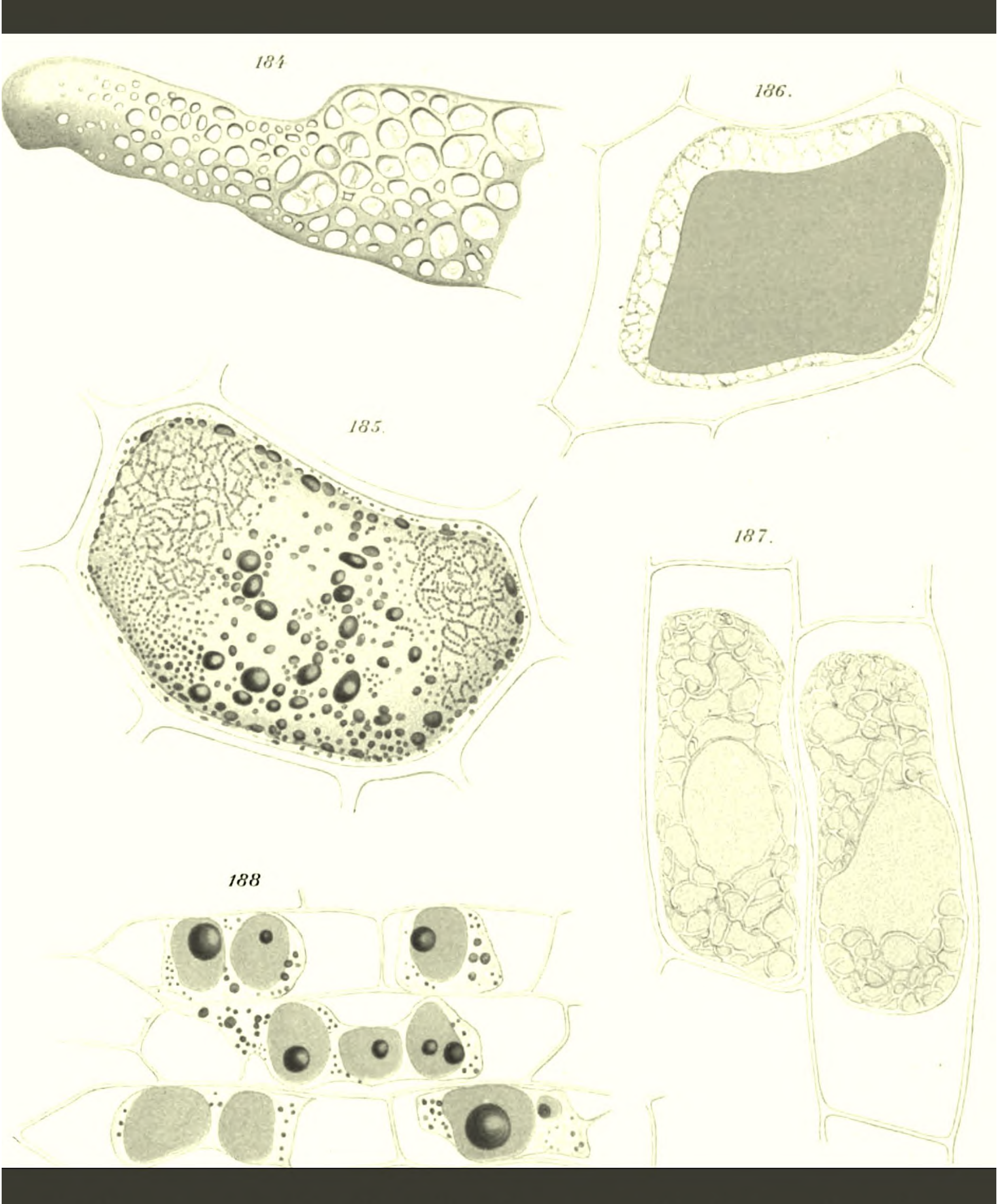




Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas

Frank Schwarz



Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas.



Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas.

Von

Dr. Frank Schwarz,

Privatdocent der Botanik an der Universität Breslau.

Mit acht Tafeln.



Breslau 1887.

J. U. Kern's Verlag

(Max Müller).

Separatabdruck aus den Beiträgen zur Biologie der Pflanzen, herausgegeben
von Dr. Ferd. Cohn. Bd. V, Heft 1.

Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas.

Von

Dr. Frank Schwarz.

Hierzu Tafel I—VIII.

Vorwort.

Die Untersuchung des Protoplasmas gehört zu jenen Fragen, die immer wieder aufs Neue in Angriff genommen werden müssen, will man die am Organismus auftretenden Erscheinungen weiter verfolgen. Soll eine derartige Untersuchung allgemeineres Interesse erwecken, so wird es nothwendig sein neue Methoden und Gesichtspunkte zu finden, welche systematisch durchgeführt zur Controlle der auf anderem Wege gefundenen Thatsachen dienen.

In der vorliegenden Abhandlung habe ich den Versuch gemacht, vorzüglich die chemische Zusammensetzung des Protoplasmas aus verschiedenen Proteinkörpern nachzuweisen, um unter Berücksichtigung der chemischen Eigenschaften die feinere Struktur des Protoplasmas einer genauen Untersuchung und Prüfung zu unterwerfen. Meine Arbeit liefert den Beweis für die Brauchbarkeit der von mir angewendeten Methode und wenn sich meine Angaben auch nur auf Pflanzenzellen beziehen, so glaube ich doch, dass dieselben ebenso Zoologen und Anatomen nützlich sein werden, sobald es sich um die Entwicklung und Beschaffenheit des Zellinhaltes, um Kerntheilungs- und Zellbildungsfragen handelt. Die durch solche Untersuchungen angebahnte genauere Kenntniss des Protoplasmas ist ferner nothwendig, wenn wir versuchen physiologische Erscheinungen, wie Fortpflanzungs- und Stoffwanderungsprocesse oder gewisse Reizerscheinungen, soweit dies möglich ist, auf unmittelbar wahrnehmbare Vorgänge in der einzelnen Zelle zurückzuführen. Da es bei derartigen Fragen von Vortheil sein musste, eine allgemeinere Uebersicht der Eigenschaften und Reactionen der Proteinkörper zu besitzen, andererseits in den neueren Handbüchern der Botanik und Zoologie eine derartige genauere Uebersicht fehlt, habe ich mich entschlossen, meinen eigenen Beobachtungen eine Zusammenstellung des bisher in dieser Richtung Bekannten (§ 38) beizufügen.

Wenn nun auch gerade dieser Theil für den physiologischen Chemiker weniger Neues enthält, so glaube ich doch, dass meine Arbeit auch für den Chemiker einiges Interesse bietet, indem durch die vorliegende Abhandlung die in der Pflanze vorkommenden Proteinkörper näher charakterisirt werden, eine Trennung und Bestimmung derselben in der Zelle ermöglicht wird. Ein Extrahiren von Stoffen ohne Rücksicht darauf, ob analoge Substanzen ursprünglich schon vorhanden sind, führt zur Untersuchung von Stoffgemischen, die für die Beurtheilung der Vorgänge in der lebenden Zelle zumeist nicht verwendbar sein werden, während man unter Berücksichtigung des mikroskopischen Befundes zur Kenntniss, ich möchte sagen, natürlicher Porteinkörper gelangen wird.

Ich wende mich also mit dieser Arbeit nicht nur an die Botaniker, für welche sie speciell bestimmt ist, sondern auch an die übrigen Biologen und Physiologen, sowie an die physiologischen Chemiker.

Die vorliegenden Untersuchungen, welche ich im Frühjahr 1886 abgeschlossen habe, wurden zumeist im pflanzenphysiologischen Institut der Universität Breslau vorgenommen, dessen Hilfsmittel mir Herr Professor Dr. F. Cohn in der liberalsten Weise zur Verfügung stellte. Ich ergreife die Gelegenheit Herrn Professor Dr. F. Cohn für die mir zu Theil gewordene Unterstützung an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Breslau, Februar 1887.

Dr. F. Schwarz,
Privatdocent der Botanik an der
Universität Breslau.

Inhaltsverzeichniss.

Kapitel IV. Cytoplasma.

pag.

Kapitel V. Die Reactionen und Eigenschaften der Proteinstoffe.



Einleitung.

Das Protoplasma der Pflanzenzellen — nur um diese handelt es sich bei der folgenden Untersuchung — ist ein höchst complicirter, mit den mannigfaltigsten Funktionen ausgestatteter Organismus. Eine chemische Untersuchung desselben ohne Rücksicht auf diese Zusammensetzung aus verschiedenen, speciell den morphologischen Elementen hat ungefähr denselben Werth als ob wir — um einen drastischen Vergleich zu gebrauchen — ein Kaninchen oder einen Hund mit all seinen Organen und Bestandtheilen auf seine chemischen Stoffe und Verbindungen untersuchen würden. Ich will damit sagen, dass wir vor Allem auf die morphologische Differenzirung des Protoplasmas Rücksicht zu nehmen haben, sollen die auf chemischem Wege erhaltenen Resultate für die Physiologie verwerthbar sein. Die Frage nach der chemischen Zusammensetzung des Protoplasmas ist nicht zu trennen von der Frage nach der morphologischen Zusammensetzung desselben.

Wir fassen die besonders gestalteten Körper der Pflanzenzelle, wie die Kerne, Chlorophyllkörper, Stärkebildner, Farbstoffbildner, Aleuronkörner, als einzelne Organe auf, welche ebenso wie der übrige Theil des Protoplasmas, das Cytoplasma (nach dem von Strasburger dafür vorgeschlagenen Ausdrucke) bestimmte aber verschiedene Funktionen haben. Die Verschiedenheit der Funktion bedingt eine dementsprechende mannigfaltige chemische Zusammensetzung.

Wenn nun auch alle diese einzelnen Bestandtheile und Organe der Zelle eine der morphologischen analoge chemische Differenzirung aufweisen, so zeichnen sie sich dennoch durch eine hinreichende Menge von gemeinsamen chemischen und physikalischen Merkmalen aus, welche es rechtfertigen, alle diese Gebilde mit einem Namen zusammenzufassen, und welcher Ausdruck wäre natürlicher als der Name Protoplasma.

Von Flemming, einer unserer ersten Autoritäten auf diesem Gebiete, ist für die Beseitigung des Begriffes und Wortes Protoplasma plaidirt worden, ich glaube jedoch, die Zellphysiologie kann schon aus rein praktischen Gründen einen Ausdruck für den gesammten aktiven Theil des Zellinhaltes nicht entbehren, es wäre dies nur dann möglich, wenn wir alle einzelnen, sich in der

Zelle abspielenden Processe auf den Kern, die Chlorophyllkörper etc. und die übrige Zellsubstanz localisiren könnten. Dies ist bis jetzt nicht der Fall.

Ich kann mich in dieser Beziehung auch auf Sachs[1]) berufen, welcher den Kern und somit auch die übrigen Gebilde der Zelle als einen Theil des Protoplasmas bezeichnet. Ebenso hält Strasburger[2]) und Pfeffer an der Bezeichnung Protoplasma fest.

Alle Einlagerungen, welche nur vorübergehend in der Zelle vorkommen, alle Producte, welche durch die Thätigkeit des lebenden Protoplasmas entstehen, wird man von diesem trennen müssen, gleichgiltig, ob dieses unlösliche, geformte Gebilde oder ob es gelöste Stoffe sind. Diese Trennung von dem Producirenden und seinen Producten hat schon bei Hanstein einen bestimmten Ausdruck gefunden, welcher das Protoplasma von dem Metaplasma schied. Ich acceptire diese Trennung, nur kann ich keinen Unterschied machen z. B. zwischen der unlöslichen Stärke und dem in Lösung übergegangenen Zucker, wenn sich der eine Stoff auch im Protoplasma, der andere im Zellsaft befindet. Demnach ist der Zellsaft nicht mit in den Begriff des Protoplasmas aufzunehmen. Unter Protoplasma verstehe ich nur den activ thätigen, producirenden Theil des Zellinhaltes, welcher sich durch bestimmte physikalische und chemische Eigenschaften auszeichnet.

Selbstverständlich ist es, dass ich den Ausdruck Protoplasma nicht auf jenen Theil beschränke, der nach Abzug aller besonders geformten Gebilde übrig bleibt, auf das Cytoplasma. Ich erwähne dies, um Verwechselungen vorzubeugen, da von einigen Forschern der Ausdruck Protoplasma in demselben Sinne gebraucht ist, wie ich Cytoplasma angewendet habe.

Was die morphologische Differenzirung des Protoplasmas anbelangt, so sind unsere Kenntnisse speciell durch die Forschungen des letzten Jahrzehnts sehr wesentlich gefördert worden. Man begnügte sich nicht damit, die einzelnen Zellorgane zu unterscheiden, man drang weiter vor und richtete sein besonderes Augenmerk auf den feinsten Bau aller Gebilde, man zerlegte die einzelnen Theile in ihre fädigen, körnigen oder homogenen Strukturelemente. Trotz der eingehendsten Studien ist man jedoch noch nicht zu vollständig einwandsfreien Resultaten gelangt. Relativ am besten begründet sind die Ansichten über den Bau des Zellkernes, dagegen muss man zugeben, dass die Frage nach der Struktur des Cytoplasmas noch keineswegs erledigt ist. Hat das letztere wirklich einen fibrillärgerüstförmigen Bau, oder sind die an fixirten Objecten zu Tage tretenden Erscheinungen erst durch die angewendeten Fixirungs- und Fällungsflüssigkeiten hervorgerufen? Je nach der Meinung, welche man von solch fixirtem Material besass, wurde diese Frage in verschiedener Weise beantwortet. Aehnlich stehen die Sachen bei den Chlorophyllkörpern.

Bei dieser Unsicherheit mancher Resultate war es mir demnach nicht

[1]) Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 1882. p. 94.

[2]) Ueber den Theilungsvorgang der Zellkerne und das Verhältniss der Kerntheilung zur Zelltheilung. 1882. p. 4.

möglich, mich auf den ursprünglichen Zweck meiner Arbeit, die chemische Untersuchung des Protoplasmas zu beschränken, ich musste vielmehr die verschiedenen Ansichten selbst prüfen. Es ist dies zum Theil mit Heranziehung neuer Methoden geschehen, ohne dass ich es jedoch versäumt hätte, die auf anderem Wege gewonnenen Resultate mit den meinigen zu vergleichen.

Was die Untersuchung der chemischen Differenzirung des Protoplasmas anbelangt, so leidet diese unter der Einseitigkeit der bisherigen Methoden. Man weiss wohl, dass das Protoplasma zum wesentlichen aus Proteinstoffen besteht, dass auch noch andere Stoffe darin vorkommen, man nimmt fernerhin an, dass die einzelnen Strukturelemente desselben chemisch verschieden sind, aber für diese chemischen Differenzen hat man nur wenige und nicht ausreichende Anhaltspunkte und Reactionen.

In erster Linie war das Verhalten des fixirten, d. h. gefällten Zellinhaltes gegen Farbstoffe für die meisten Mikroskopiker maassgebend. Die verschiedene Fähigkeit, Farbstoffe fest zu halten, kann man nicht als eine unbedingt entscheidende chemische Reaction ansehen. Die verschieden dichte Lagerung desselben Stoffes, oder die Imprägnirung eines Strukturtheils mit einer als Beize wirkenden Substanz kann sehr wesentliche Differenzen der Tinctionsfähigkeit hervorrufen. Auch die Einlagerung eines indifferenten Stoffes scheint mir unter Umständen das Färbevermögen wesentlich beeinflussen zu können. So zog z. B. ein Stückchen Gelatinegallerte Anilinfarbstoff nur wenig an, dagegen färbte sich dieselbe sehr lebhaft, wenn in der Gelatine Zucker aufgelöst war. Die Hoffnung, dass sich neue Farbstoffe finden werden, welche andere feinere Strukturelemente, als die bisher stark tingirbaren, ausschliesslich färben, ist nach meiner Ansicht eine geringe, indem sich im Grossen und Ganzen die relativen Unterschiede in der Tinctionsfähigkeit der einzelnen Strukturelemente des Protoplasmas für alle Farbstoffe gleich bleiben. So glaube ich, wird es z. B. nicht gelingen, die wenig farbstoffspeichernden Chlorophyllkörper zu färben, ohne dass der Zellkern noch stärker tingirt wird. Es wäre dies möglich, wenn die einzelnen Plasmastoffe mit bestimmten Farben chemische Verbindungen eingehen würden, dann könnten die Stoffe des Chlorophyllkörpers andere Farben chemisch binden als die Kernstoffe. Bei den bisher angewendeten Färbungsmethoden handelt es sich aber hauptsächlich nur um eine physikalische Zwischen- oder Anlagerung von Farbstofftheilchen und diese wird durch andere Faktoren in in einer Weise bestimmt, dass die chemische Differenz zwischen den verschiedenen Plasmastoffen in den Hintergrund treten muss.

Ich will nicht unterlassen zu bemerken, dass die Theoretiker der Färberei zu industriellen Zwecken, die, wenn es erlaubt ist vom Grossen ins Kleine zu schliessen, auch hier gehört werden müssen, das Färben überhaupt als eine Erscheinung der Flächenanziehung auffassen, die auch bei der Gasabsorption durch Holzkohle, der Entfärbung durch Knochenkohle, der Absorption von Salzen durch den Erdboden wirksam sei und um so stärker auftrete, je entwickelter die Oberfläche für einen bestimmten Cubikinhalt

sich darstelle. Deshalb färbt sich die stärker quellbare Seide und Wolle[1]) leichter als die Flachsfasern, deshalb wirken die colloidalen Oxyde des Aluminiums, Eisens, Chroms und Zinns als Beizen, ebenso die Gerbstoffe, die zunächst von der Faser angezogen, andererseits auch die Farbstoffe fixiren. Erst neuerdings hat R. Nietzki[2]) bei Besprechung der Theerfarbstoffe wieder mehr Werth auf deren basische oder saure, d. i. chemische Beschaffenheit der Farbstoffe und der Faser gelegt.

Ich will mit diesen Auseinandersetzungen den Färbungsmethoden durchaus nicht jeden Werth zur Unterscheidung verschiedener Stoffe im Zellinhalte absprechen, nur verlange ich zur Charakterisirung der verschieden tingirbaren Strukturelemente noch andere rein chemische Reactionen.

Vielleicht gelingt es gerade durch die Combination der Reagentienwirkung mit Färbemethoden, bestehende Unterschiede leicht erkennbar zu machen. Wenn man, wie z. B. bei der Färbung mancher im Gewebe schwer aufzufindender Bacterien zur Zerstörung des Gewebes und hiermit auch dessen Tinctionsfähigkeit, Salzsäure anwendet, wobei das Gewebe farblos wird, während die Bacterien gefärbt bleiben, so ist dies doch nur auf die grössere Widerstandsfähigkeit der Bacterien gegen die Salzsäure zurückzuführen, aber nicht als Reaction gegen den Farbstoff aufzufassen.

Gegenüber der Unterscheidung durch Färbungen muss ich es daher als einen entschiedenen Fortschritt ansehen, für die Erkennung gewisser Stoffe im Protoplasma Verdauungsfermente angewendet zu haben, welche zuerst wohl von E. Zacharias[3]) und von Reinke und Rodewald[4]) in die Pflanzenphysiologie eingeführt wurden.

Man unterschied zwischen den in künstlichem Magensaft verdaubaren Eiweissstoffen und den darin unlöslichen Nucleinen und Plastinen. Diese Unterscheidung verdiente aus dem Grunde ein besonderes Interesse, weil man vermuthen konnte, die verdaubaren, also leichter in einen löslichen Zustand überzuführenden Stoffe seien nur Nahrungsstoffe, die weniger beständig wären, sich auch zum Transport von einer Zelle zur anderen besser eigneten, während die Nucleie und Plastine mehr den höher organisirten Theil des Plasmas darstellen würden. So lange man aber nur auf diese eine Reaction — das Verhalten gegen Pepsin — Rücksicht genommen hat, blieben alle derartigen Schlussfolgerungen sehr unsicher. So sehen wir z. B., dass das Chromatin des Zellkerns durch Pepsin nicht angegriffen wird, auch gegen verdünntere Säuren relativ widerstandsfähig ist, daraus darf man jedoch nicht den Schluss ziehen, dass das Chromatin der überhaupt beständigste Theil der Zelle und des Kernes ist. Unsere Unter-

[1]) Bei Seide und Wolle kommt vielleicht auch die chemische Zusammensetzung mit in Betracht.

[2]) Encyclopädie der Naturwissenschaften. Handwörterbuch der Chemie. Lieferung 16.

[3]) Bot. Zeitung. 1881. p. 169.

[4]) Studien über das Protoplasma. 1881.

suchungen über die Eigenschaften und Löslichkeitsverhältnisse des Chromatins werden zeigen, wie verfehlt ein derartiger Schluss gewesen ist. Bei der Bedeutung, welche die Unterscheidung der verschiedenen Stoffe durch Fermentwirkungen besitzt, muss ich mich wundern, dass die Angaben von E. Zacharias keiner genaueren Prüfung und Nachuntersuchung unterworfen wurden, besonders da durch die Anwendung eines anderen Verdauungsfermentes, des Trypsins die besprochene Methode erweitert werden konnte. Wenn wir dabei auch gute Resultate erhalten, so machen dieselben doch eine weitere Untersuchung anderer Reactionen nicht überflüssig.

Die dritte Methode zur Auffindung verschiedener Stoffe im Protoplasma ist die macrochemische Darstellung und Prüfung der aus der Pflanze extrahirbaren Substanzen. Es musste hiermit der Nachweis verbunden sein, dass gleichartige Stoffe auch in der Zelle resp. in bestimmten Strukturelementen wirklich vorkommen. Da die Darstellung nur von Chemikern ausging, zum Nachweis der Substanzen in der Zelle aber nur Jemand befähigt sein konnte, der die mikroskopische Technik vollständig beherrschte, so blieb dieses Mittel der Erkenntniss unbenutzt. Es gilt dies namentlich für die Pflanzenzellen, während die thierischen Gewebe von den Physiologen wiederholten derartigen Untersuchungen unterzogen wurden.

Wir sehen demnach, die bisherigen Untersuchungsmethoden reichen nicht aus, um alle Proteinstoffe des Protoplasmas zu unterscheiden, und noch weniger, um sie durch allgemeinere Reactionen zu charakterisiren. Ich wendete daher eine neue Methode an, die ich[1]) in einem früheren Aufsatze als die Methode der partiellen Lösung bezeichnet habe. Jene Reagentien, welche wie Alkohol, gewisse Metallsalze und Säuren, das ganze Protoplasma unlöslich machen, sind nicht geeignet, Differenzen zwischen den einzelnen Strukturelementen resp. deren Stoffen nachzuweisen, dagegen mussten jene Reagentien, die als schlecht fixirend ausser Cours gesetzt waren, vorhandene stoffliche Unterschiede am besten aufklären, indem sie nur einen Theil der Stoffe fällen, die übrigen jedoch lösen oder zur Quellung bringen.

Bei der Auswahl der Reagentien liess ich mich von dem Gesichtspunkte leiten, womöglich jene Substanzen zur Anwendung zu bringen, welche bei der macrochemischen Darstellung und Unterscheidung der Proteinstoffe verwendet worden sind. Hierdurch wurde es mir zugleich möglich, der Frage näher zu treten, ob die von den Chemikern bisher isolirten Proteinstoffe wirklich in der Pflanze vorkommen oder nicht.

Die bei der Einwirkung des Wassers zu beobachtenden Erscheinungen sind mit grosser Vorsicht zu verwerthen, da in der Zelle sonst noch vorkommende Stoffe diese Reaction in höherem Maasse beeinflussen, als bei anderen Reagentien. Grösserer Gehalt an Kalisalzen wird die protoplasmatischen Substanzen löslicher erscheinen lassen, Gegenwart von Gerbstoff oder Säuren im Zellsafte, die bei der Verletzung der Zelle mit dem Protoplasma

---

[1]) Berichte der deutschen Botanischen Gesellschaft. 1886. Bd. IV. Heft 11. p. CIII.

in Berührung kommen, werden die Löslichkeit der einzelnen Stoffe in Wasser sehr bedeutend vermindern. Immerhin war es nothwendig, die Einwirkung von Wasser zu untersuchen, um gerade die genannten secundären Einflüsse kennen zu lernen.

Das Verhalten gegen Neutralsalze charakterisirt die verschiedenen Proteinstoffe relativ am besten. Eine 10procentige Kochsalzlösung unterscheidet Globuline und Albuminate, die 20procentige Lösung die verschiedenen Globuline, die bei 30 ° C. gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia trennt Albumine und Globuline. Ferner zeichnet sich die gesättigte Lösung von schwefelsaurem Ammoniak durch die Fällung der meisten Proteinstoffe aus. Alle diese Stoffe mussten also Anwendung finden.

Kalilauge wurde schon vielfach bei der Untersuchung des Zellinhaltes verwendet, es musste jedoch eine stufenweise verschiedene Intensität der Alkaliwirkung auch dort zur Unterscheidung verschiedener Proteinstoffe führen, wo bisher bei der Kaliwirkung allein keine Differenzen zu constatiren waren. Die Anwendung verschiedener Concentrationen von Kalilauge genügte nicht, weshalb ich zum Vergleich auch die phosphorsauren Alkalien und Kalkwasser heranzog. Von phosphorsauren Salzen verwendete ich das Monokaliumphosphat (KH_2PO_4) und das Dinatriumphosphat (Na_2KPO_4). Ich wählte für letzteres die Natriumverbindung und nicht die Kaliumverbindung, weil man jene mit Leichtigkeit rein von jeder Beimischung des dreibasischen Salzes erhalten konnte, während K_2HPO_4 nur schlecht krystallisirt und zu leicht mit K_3PO_4 vermengt erhalten wurde. Dreibasische Kaliphosphate reagiren ungefähr wie Kalilauge, weshalb ich deren Wirkung nicht weiter untersuchte.

Ausserdem war das Verhalten von Kaliphosphaten gegen das Protoplasma interessant, weil die Möglichkeit vorlag, dass dieselben schon als solche in der Pflanze vorkämen.

Da sich die Proteinkörper gegen verdünnte und concentrirte Lösungen anders verhalten, war es nothwendig, Lösungen verschiedener Concentration anzuwenden, was natürlich bei dem Kalkwasser nicht möglich war, da Wasser nur wenig Kalk aufzunehmen vermag.

Es giebt eine ganze Reihe von Säuren, welche mehr oder weniger unabhängig von der Concentration sämmtliche Proteinkörper in einen wasserunlöslichen Niederschlag verwandeln. Hierher gehören Picrinsäure, Osmiumsäure, Chromsäure, Phosphorwolframsäure (mit Zusatz von etwas Salz- oder Schwefelsäure) u. a. Bei der Anwendung dieser Säuren war es nicht wahrscheinlich, Differenzen in der chemischen Beschaffenheit der einzelnen Strukturelemente zu finden, da ja alle Proteinstoffe gleichmässig gefällt wurden. Ich habe deshalb die Wirkung derselben nicht näher untersucht und mich auf jene Säuren beschränkt, die nicht vollständig fixiren, wo je nach der Concentration statt der Fällung auch Lösung zu erwarten war. Hierher gehören die Mineralsäuren und die sog. organischen Säuren. Es würde mich zu weit geführt haben, die Wirkung aller dieser Stoffe auf das

Plasma zu untersuchen, wesshalb ich zwei verschiedene Säuren herausgriff, die auch bei der Darstellung von Eiweissstoffen eine bedeutende Rolle gespielt haben. Es sind dies Essigsäure und Salzsäure, womit ich nicht sagen will, dass vielleicht andere Säuren nicht noch besser als Unterscheidungsmittel zu verwenden gewesen wären.

Besonders bei Unterscheidung verschiedener Kernstoffe war die Anwendung einiger Metallverbindungen von besonderem Vortheil. Ich habe nur einige wenige einwirken lassen, glaube aber, dass derartige Stoffe vorzüglich dazu geeignet sein werden, die Proteinsubstanzen in der Zelle zu charakterisiren.

Eine Lösung von Ferrocyankalium, die mit Essigsäure angesäuert wurde, hat man bisher zur Unterscheidung von peptonartigen Substanzen mit Erfolg angewendet. Bei höherer Concentration dieser Lösung und höheren Essigsäuregehalt ist diese Mischung auch zur microchemischen Untersuchung geeignet. Die von mir angewendete Mischung bestand aus 1 Volumth. wässeriger Blutlaugensalzlösung (von der Concentration 1 : 10), 2 Volumth. Wasser, ½ Volumth. Eisessig.

Das schwefelsaure Kupfer und doppelchromsaure Kali verwendete ich in ziemlich concentrirter Lösung.

Das *Ferrum dialysatum solubile,* welches ich anwendete, ist in den Apotheken unter dem Namen lösliches Eisen bekannt. Seine Darstellung ist bei Gorup-Besanez, Lehrbuch der Chemie, angegeben.

Zur Pepsinverdauung verwendete ich eine künstliche Verdauungsflüssigkeit, welche 3 Volumth. Salzsäure von 0.2% und 1 Volumth. Pepsinglycerin enthielt.

Bei der Bereitung der trypsinhaltigen Verdauungsflüssigkeit hielt ich mich an die von W. Kühne[1]) angegebene Methode. Einen Gewichtstheil getrockneter Pancreas[2]) lässt man mit 5—10 Gewichtstheilen Salicylsäure von 1 pro mille 3—4 Stunden bei 40° C stehen, filtrirt durch ein Leinenläppchen, um die Bindegewebssubstanz zu beseitigen und nach dem Abkühlen nochmals durch Papier. Eine solche Lösung muss eine vorher erwärmte Fibrinflocke in 1 Minute zum Zerfall bringen, in 5 Minuten zu einem Brei lösen.

Die verdünnte Salicylsäure hindert die Fäulniss während der Dauer des Versuches, ist aber auf die Verdauung ohne Wirkung. Die Verdauungsflüssigkeit reagirt schwach sauer, eine einfach lösende Wirkung durch verdünnte Alkalien ist daher ausgeschlossen.

Die speciell zur Erkennung des Chromatins angewendete Färbungsmethode mit Methylviolett ist bei Kapitel III § 17 beschrieben. Ich kann diese Gran'sche Methode auf das Beste empfehlen, da sie sehr reine Chromatinfärbungen ergibt.

Zur Erklärung und zum richtigen Verständniss der auf die Löslichkeit

[1]) W. Kühne, Kurze Anleitung zur Verwendung der Verdauung in der Gewebeanalyse (in den Untersuchungen a. d. physiologischen Institut der Universität Heidelberg). 1878. Bd. I. p. 219.

[2]) Bezogen von Dr. Grübler in Leipzig.

Bezug habenden Thatsachen war es nothwendig, zwei Dinge zu berücksichtigen, nämlich einmal die im Plasma vorkommenden Salze und dann die im Zellsaft gelösten Stoffe. Letztere können, wenn sie bei der Verletzung der Zellen auf das Protoplasma zur Wirkung gelangen, an und für sich lösliche Stoffe unter dem Mikroskop leicht unlöslich erscheinen lassen, wie z. B. der im Zellsaft häufig vorkommende Gerbstoff und die organischen Säuren, welche schon in geringer Menge vorhanden, plasmatische Substanzen fixiren.

In Bezug auf die im Protoplasma löslichen Salze stellte sich als constante Thatsache heraus, dass das Protoplasma immer alkalisch reagirt, und dass in der lebenden Zelle es sich wahrscheinlich um eine Verbindung des alkalischen Salzes mit den Proteinstoffen handelt. Ich habe dieser Untersuchung ein eigenes Kapitel gewidmet, welches den übrigen Beobachtungen vorausgestellt wurde.

Allerdings handelt es sich bei allen bisherigen Untersuchungen und Methoden nur um todten Zellinhalt. Es ist dies ein Fehler, der aber, wie ich glaube, vorläufig nicht zu beseitigen ist. Immerhin bedeutet es einen Fortschritt, wenn wir wenigstens an den todten Zellen nachweisen können, von welcher Art die chemischen Differenzen sind, die zwischen den einzelnen Theilen des Zellinhaltes und zwischen den Strukturelementen dieser Theile bestehen. Differenzen in der todten Zelle bedingen auch Differenzen in der lebenden Zelle, denn wir können nicht annehmen, dass aus zwei chemisch vollständig gleichartigen Stoffen beim Verletzen der Zelle zwei verschiedene Stoffe entstehen. Ebenso ist es erlaubt, sobald verschiedene Strukturelemente in der verletzten Zelle gleiche Reactionen aufweisen, auch für die lebende Zelle eine nahe Verwandtschaft beider anzunehmen. Die Behauptung, die Stoffe der lebenden Zellen seien wesentlich verschieden von jenen der verletzten Zelle ist bisher durch nichts bewiesen, und so müssen wir uns mit dem gegenwärtig Erreichbaren begnügen.

In Bezug auf die Ausdehnung meiner Untersuchungen musste ich mir gewisse Beschränkungen auferlegen, wollte ich nicht die Publication über Gebühr hinausschieben. Ich habe daher hauptsächlich nur das Protoplasma von Zellen untersucht, welche nicht speciellen Aufgaben angepasst waren. Ich habe daher weder Fortpflanzungszellen, noch Reservestoffe speichernde Zellen untersucht, hoffe aber dies später nachtragen zu können. Speciell habe ich die Absicht, meine Untersuchungen auf die Samen auszudehnen, da sich gerade bei diesen interessante Thatsachen über die Ein- und Auswanderung von Stoffen und die Betheiligung der einzelnen Bestandtheile der Zelle an diesen Funktionen erwarten lassen.

Trotz dieser Beschränkung auf bestimmte Zellen haben meine Untersuchungen eine Reihe interessanter Thatsachen zu Tage gefördert.

Es konnte eine grössere Anzahl verschiedener Proteinstoffe[1]) in der Pflanzenzelle nachgewiesen werden, welche als die Bestandtheile der einzelnen

[1]) Unter Proteinsubstanzen fasse ich im Anschluss an Reinke (Bot. Zeitung 1886 p. 241) Eiweissstoffe, Nucleine und die verwandten Körper zusammen.

Strukturelemente erkannt wurden. Diese Stoffe sind durch eine Reihe von Reactionen charakterisirt, welche ich im fünften Kapitel zusammengestellt habe.

Da die gefundenen Stoffe in ihren Reactionen den auf macrochemischen Wege dargestellten Proteinstoffen nicht vollständig glichen, war ich gezwungen, für dieselben eigene Namen einzuführen, welche ich den morphologischen Verhältnissen entsprechend ausgewählt habe. Ausserdem habe ich aber Rücksicht genommen auf die chemische Verwandtschaft der einzelnen Stoffe, indem ich Substanzen, welche sich in ihren Reactionen sehr nahe stehen, mit demselben Worte bezeichnete und nur durch die Verbindung mit einem zweiten Worte von einander schied. So kommt in den Chlorophyllkörpern eine Plastinsubstanz vor, welche sich nur wenig von der Plastinsubstanz des Cytoplasmas unterscheidet, ich habe diese beiden Stoffe als Chloroplastin und Cytoplastin unterschieden. In den Chlorophyllkörpern kommt ausserdem noch eine zweite Proteinsubstanz vor, welche ich, da sie die Zwischenräume zwischen den Chloroplastinfibrillen ausfüllt, als *Metaxin* bezeichnet habe (nach τὸ μεταξύ der Zwischenraum).

Im Kern weicht die Substanz der Kernmembran und der Nucleolen nur wenig in ihren Reactionen von einander ab, ich habe daher die Substanz der Nucleolen *Pyrenin,* die der Membran *Amphipyrenin* genannt (ὁ πυρήν der Kern). Die Gerüstsubstanz des Kerns und die dazwischen befindliche Substanz wurde als *Linin* und *Paralinin* bezeichnet (von τὸ λίνον der Faden). Für die von der Kernfigur stammende stark tingirbare Substanz habe ich den Ausdruck *Chromatin* beibehalten.

Wie schon durch diese Benennungen ausgedrückt ist, fehlen sämmtliche Kernstoffe in dem übrigen Protoplasma. Durch Einwirkung bestimmter Reagentien war es mir möglich dieselben allein heraus zu lösen, während die Substanzen des übrigen Protoplasmas ungelöst blieben. Diese Thatsache, dass sich die Bestandtheile des Kerns derartig charakterisiren lassen, rechtfertigt die Bezeichnung Strasburgers der Kernsubstanzen als *Nucleoplasma,* wenn dies auch sonst vielleicht weniger praktischen Werth besitzt.

Vergleichen wir Cytoplasma, Chlorophyllkörper und Kern in Bezug auf die Zahl der verschiedenen Proteinstoffe, welche diese Gebilde zusammensetzen, so stellt sich heraus, dass im Cytoplasma sich nur ein Proteinstoff nachweisen lässt, in den Chlorophyllkörpern zwei, in den Kernen fünf verschiedene Stoffe nachweisen lassen. Im Cytoplasma kommen zwar gelöste Stoffe in grösserer Menge vor, die man auch als Zwischensubstanz bezeichnen kann, dieser Lösung fehlen jedoch wenigstens in den erwachsenen Zellen die Proteinstoffe. Es ergiebt sich aus dieser verschiedenen Zusammensetzung, dass der Kern ein unvergleichlich complicirterer Organismus ist als das Cytoplasma und auch als die Chlorophyllkörper, welch' letztere dem Cytoplasma zwar nahe stehen, aber doch ebenfalls etwas höher organisirt sind.

Das Cytoplasma besitzt auch keinen fibrillärgerüstförmigen Aufbau wie Chlorophyllkörper und Kerne, es gleicht vielmehr einer Mischung. Es ist also auch in dieser Hinsicht einfacher organisirt. Der Beweis für diese

Thatsachen findet sich im vierten Kapitel. Dort sind auch die durch Fällung entstehenden künstlichen Strukturen beschrieben, welche zu der Annahme eines gerüstförmigen Aufbaus Veranlassung gegeben haben.

Mit der Verschiedenheit der chemischen Zusammensetzung hängt auch die Verschiedenheit der Functionen der einzelnen Zellgebilde zusammen. Wenn wir dagegen eine gleichartige chemische Beschaffenheit vorfinden, werden wir wenigstens auch auf ähnliche Funktionen schliessen dürfen. Die ernährungsphysiologische Funktion der Chlorophyllkörper macht es daher wahrscheinlich, dass auch das Cytoplasma bei der Ernährung und Stoffumwandlung in hervorragender Weise betheiligt ist.

Auch einen direkten Vortheil für die mikroskopische Forschung bieten meine Untersuchungen, indem es durch die angegebene Methode möglich ist, morphologisch ähnliche oder gleichtingirbare Gebilde und Strukturelemente zu unterscheiden. Vielfach kann der Zusatz eines bestimmten Reagenz entscheiden, ob ein fraglicher Bestandtheil der Zelle vorhanden ist und wie er beschaffen ist. Gerade in dieser Hinsicht ist eine Verbesserung und Erweiterung der mikroskopischen Methoden möglich und für viele Fälle auch nothwendig. Meine ganze Abhandlung zeigt, dass der von mir eingeschlagene Weg zu einer genauen Feststellung der Struktur des Protoplasmas führt.

Vergleichen wir die Stoffe verschiedener Pflanzen miteinander, so sehen wir, dass sich in den Reactionen der homologen Zellgebilde verschiedener Pflanzen eine weitgehende Gleichheit kundgibt. Speciell Cytoplasma und Chlorophyllkörper zeigen überall dieselben Eigenschaften. Bei den Kernen der verschiedenen Pflanzen machen sich kleine Differenzen geltend, die meist jedoch nur qualitativer Natur sind, indem bei den einen Pflanzen die Stoffe etwas leichter löslich oder quellbar sind als bei den anderen. Immerhin sind die Unterschiede so gering, dass ich es für gerechtfertigt hielt, die sich entsprechenden Stoffe der verschiedenen Pflanzen mit demselben Namen zu belegen. Die etwas grösseren Differenzen in den Reactionen des Kerns sind möglicherweise auch dadurch bedingt, dass die Kernstoffe für geringe, aus dem Zellsaft stammende Säure- und Gerbstoffmengen empfindlicher sind als die übrigen Gebilde, vielleicht ist der Kern aber auch der Träger jener Eigenschaften, wodurch sich die Pflanzen von einander unterscheiden. Wäre letzteres richtig, so würden wir als Träger dieser Qualitäten das Kerngerüst (das *Linin*) anzusprechen haben, da dies vor allem die relativ grössten Differenzen aufweist, während das Chromatin bei allen Pflanzen sich nur sehr wenig oder gar nicht verschieden verhält. Das Chromatin ist auch viel weniger widerstandsfähig gegen die meisten Reagentien, als das Linin und Paralinin. Die leichtere Löslichkeit lässt aber auf ein geringeres Molekulargewicht schliessen, während gerade jener Stoff, der die vererbbaren Qualitäten des Organismus enthält, wahrscheinlich ein sehr hohes Molekulargewicht haben muss und da die vererbbaren Qualitäten sich fast gar nicht verändern, innerhalb der Pflanzen niemals in Lösung übergehen darf, falls er nicht seinen micellaren Aufbau und mit diesem seine Eigenschaften verlieren soll.

Ich möchte nicht weiter auf diese Hypothesen eingehen, da ich zu deren Begründung auf ein ganz anderes Gebiet übergehen müsste, ich wollte hier nur erwähnen, dass die chemische Untersuchung sehr wohl geeignet ist, auf derartige von der Biologie neuerdings vielfach ventilirte Fragen einiges Licht zu werfen.

Da ich die Absicht hatte, die in den Pflanzen gefundenen Proteinstoffe mit den bisher macrochemisch dargestellten Substanzen zu vergleichen, habe ich mich entschlossen, in diese Abhandlung zugleich eine Uebersicht der Eigenschaften aller jener Stoffe aufzunehmen. Es stellte sich jedoch heraus, dass die von mir gefundenen Eigenschaften nicht vollständig übereinstimmen. Nichtsdestoweniger ist diese Zusammenstellung zur Orientirung über die Proteinkörper wohl geeignet, zumal da in der botanischen und zoologischen Litteratur darauf wenig Rücksicht genommen wird. Da ausser den von mir untersuchten Proteinstoffen noch eine grössere Anzahl anderer Proteinstoffe vorkommt, namentlich im Zellsaft und wahrscheinlich auch in den Reservestoffbehältern, so wird diese Zusammenstellung auch für zukünftige Fälle beim Vergleich verschiedener Proteinkörper von Werth sein.

Wir sehen aus den hier angeführten Thatsachen, wie mannigfaltig die Fragen sind, welche sich an die chemische Untersuchung des Protoplasmas anschliessen und ich darf wohl hoffen, dass man auf dem hier eingeschlagenen Wege zu weiteren für das Pflanzenleben wichtigen Resultaten gelangen wird.

Kapitel I.

Die alkalische und saure Reaction des Zellinhaltes.

§ 1. Bedeutung der Reaction von Protoplasma und Zellsaft.

Interessant wäre es, die vollständige Vertheilung der anorganischen Stoffe in der Zelle kennen zu lernen. Man könnte daraus Schlüsse ziehen über die Bedeutung der einzelnen Aschenbestandtheile für die Funktionen und die Eigenschaften der Zellen. Dazu gehört jedoch eine vollständige Kenntniss aller in der Zelle vorkommenden, auch der organischen Verbindungen, über welche wir derzeit noch keineswegs verfügen.

Ich beschränkte mich daher auf die Frage, wie reagiren Protoplasma und Zellsaft, kommt beiden eine bestimmte, constante Reaction zu und welche Bedeutung hat die Reaction derselben für die Funktionen der Zelle?

Beim Zellsaft finden wir bei den einzelnen Pflanzen verschiedene Reaction, meist sauer, jedoch auch in vielen Fällen alkalisch. Trotz dieser Verschiedenheit functioniren die Zellen in ähnlicher Weise; Athmung, Assimilation, Stoffwanderung etc. werden durch die Reaction des Zellsaftes nicht beeinflusst. Ganz anders gestaltet sich die Sachlage bei dem Protoplasma. Dies reagirt, so lange die Zelle noch ihre normale Lebensthätigkeit besitzt, immer alkalisch. Diese Constanz belehrt uns darüber, dass die Zellfunctionen sowie die Eigenschaften des Protoplasma in innigem Zusammenhang stehen mit seiner Alkalinität. Die Bedeutung dieser Thatsache wird uns klar, wenn wir bedenken, dass die Proteinstoffe des Protoplasmas durchwegs schon durch sehr geringe Mengen freier Säure gefällt wurden, ja schon saure Salze, wie das zweifach saure phosphorsaure Kali ($K H_2 P O_4$) bringen Fällungen hervor. In verdünnten Alkalien und alkalisch reagirenden Salzen behält das Protoplasma den ihm eigenthümlichen gequollenen Zustand, die Verschiebbarkeit seiner Theilchen bei. Bei saurer Reaction müsste durch die Ausfällung bedeutender Stoffmengen die Bewegungsfähigkeit, Dehnbarkeit, Elasticität des ganzen Plasmas solchen Veränderungen unterliegen, dass die Zelle nicht mehr normal functioniren könnte.

Indem wir nachweisen konnten, dass das Kali die Reaction des Plasmas bedingt, wurde zu gleicher Zeit die Bedeutung dieses Stoffes für das Leben der Pflanze in das richtige Licht gestellt. Dasselbe ist nothwendig zur Bildung von Proteinstoffen, wie sie uns die Pflanze liefert; es ist dies die Hauptfunction, und wenn De Vries[1]) behauptet, dass das Kali hauptsächlich zur Neutralisation der organischen Säuren und zur Erhöhung der Turgorkraft im Zellsaft diene, so ist dies nur sehr bedingt richtig, indem ja die Hauptmenge des Kalis an das Protoplasma gebunden ist.

Der Zellsaft enthält ohnehin eine Reihe von osmotisch stark wirksamen Stoffen, denen das Protoplasma eine gleiche osmotische Wirkung entgegensetzen muss. Die colloidalen Proteinstoffe des Protoplasmas vermögen diese Leistung nicht hervorzubringen[2]), es werden vielmehr die alkalischen Stoffe des Protoplasmas dafür einzutreten haben.

Ist eine derartig constante alkalische Reaction des Plasmas gefunden, so gewährt uns dies einen Anhaltspunkt für das Vorkommen einer ganzen Reihe von Verbindungen, die nur bei alkalischer oder neutraler Reaction in Lösung bleiben oder wie z. B. das Chlorophyll sich nur in alkalischen Medien unverändert erhalten. Für den Chemismus der Zelle ist dies von grosser Wichtigkeit.

Die Anwesenheit von Alkalien wird sich aber nicht nur in der lebenden Zelle geltend machen, sondern auch in der verletzten Zelle. Eiweissstoffe, die in Wasser unlöslich sind, wie z. B. die Globuline, können unter dem Mikroskop sich als löslich erweisen, wenn eine gewisse Menge von Alkali vorhanden ist. Es ist dies von Wichtigkeit, wenn es sich um den Vergleich der in der Zelle vorkommenden Proteinstoffe und der macrochemisch dargestellten Substanzen handelt.

Ich glaube, die angeführten Gründe reichen hin, um unser Interesse an der Frage zu rechtfertigen.

§ 2. Reaction des Zellsaftes.

Es kommt uns hier besonders darauf an, die Verbreitung des sauren Zellsaftes kennen zu lernen und zu sehen, in wie weit Ausnahmen von der Regel zu constatiren sind, dass der Zellsaft sauer reagirt. Hierzu dient uns der im Zellsaft gelöste Farbstoff als Reagens, der bei saurer Reaction roth, bei neutraler violett, bei alkalischer Reaction rein blau wird. Ich habe eine grosse Anzahl von Pflanzentheilen in dieser Richtung untersucht und gefunden, dass in den bei weiten meisten Fällen der rothe Farbstoff vorherrscht, sich auch schon an ganz jungen Pflanzentheilen vorfindet. Da das Roth bei stärkerem Säuregehalt mehr ziegelroth, weniger violett roth wird, so kann man an manchen Pflanzen auch verfolgen, wie mit dem Alter der Zellen die Säuremenge zunimmt. Immerhin bleibt die im Zellsafte vorhandene Säuremenge eine sehr geringe, wir sehen dies aus der Thatsache, dass

---

1) Pringsheims Jahrbücher f. wiss. Bot. 1884. Bd. XIV, p. 598.

2) Vgl. Pfeffer, Osmotische Untersuchungen. 1877. p. 175.

Zellen mit rothem Farbstoff, in eine sehr verdünnte Ammoniaklösung gelegt, in welcher sie vollständig lebendig bleiben, durch das in den Zellsaft diffundirende Ammoniak sehr leicht einen alkalischen d. h. blauen Zellsaft erhalten. Zur Neutralisation der Säure genügen also schon ganz geringe Mengen alkalischer Stoffe.

Wie übrigens die saure Reaction des Zellsaftes ohne Belang ist für die Functionen der Zelle, ersehen wir am leichtesten aus dem Vorkommen blauer und rother Blüthen bei Varietäten derselben Pflanzenspecies, z. B. bei *Hyacinthen, Geranien* etc., ohne dass eine sonstige Differenz im Leben und der Entwicklung zu bemerken wäre. Ferner sehen wir anfangs rothe Blüthen mit der Zeit blau werden, z. B. *Pulmonaria, Anchusa, Lathyrus,* ohne dass dies als pathologische Erscheinung aufgefasst werden könnte. Bei *Orobus vernus* und desgleichen bei *Orobus alpestris,* wo ein analoger Farbenwechsel eintritt, ist dies allerdings ein Vorbote des Absterbens, obwohl die Zellen noch in concentrirter Zuckerlösung plasmolysirbar geblieben sind. Es färbt sich der roth violette Zellsaft zuerst blau, dann blaugrün, schliesslich grün, ganz die Farbenscala darbietend, welche der Farbstoff bei wachsendem Alkaligehalte annimmt (vgl. § 3 dieses Kap.), dazwischen bleiben immer noch violettgefärbte Zellen oder bei Grünfärbung blaue Zellen übrig. Das Protoplasma quillt jedoch sehr leicht bei der Plasmolyse auf und wird bei Wasserzusatz leicht desorganisirt. Es ist diese Empfindlichkeit ein Zeichen des beginnenden Absterbens.

Ich glaube, dass es sich in diesem Falle um einen Uebertritt alkalischer Substanzen aus dem Plasma in den Zellsaft handelt. Dieselbe Erscheinung kann man an jüngeren plasmareicheren Zellen mit roth violettem Zellsaft hervorrufen, wenn man die Schnitte längere Zeit (über 24 Stunden) in einer neutralen concentrirten Zuckerlösung liegen lässt. Es treten auch dann alkalische Stoffe in den Zellsaft über, bevor noch die Zellen ihr lebendiges Aussehen und ihre Ausdehnungsfähigkeit nach der Plasmolyse (das relativ beste Zeichen des Lebens) verloren haben. Ich konnte diese Erscheinung an Blättern von *Calathea sp.* und an Braunkohlblättern constatiren.

In farblosen Zellen wird es nothwendig sein, auf eine andere Weise die saure Reaction nachzuweisen, und zwar wird wohl die von Pfeffer angegebene Methode [1]) am brauchbarsten sein, nach welcher man von den lebenden Zellen einen Farbstoff aufsaugen lässt, den man sonst beim Titriren als Indicator benutzt. Es kommt darauf an, die Pflanze in möglichst verdünnte Farbstofflösung zu bringen, in welcher das Protoplasma dann lebend bleibt und im Zellsaft die natürliche Reaction ermittelt werden kann. Nur wenn man sich überzeugt hat, dass das Protoplasma vollständig intact ist, wird das Resultat einwandsfrei sein, denn schon bei geringen schädlichen Einflüssen diffundiren, wie oben gezeigt wurde, Alkalien aus dem Protoplasma in den Zellsaft. Aehnlich wie das längere Liegenlassen in concen-

[1]) Bot. Zeitung. 1886. p. 123.

trirter Zuckerlösung wirken sehr schwache Inductionsströme und ich zweifle nicht, dass ein solcher Uebertritt des Alkalis auch noch bei anderen schädlichen Einflüssen stattfinden kann.

Ich wendete die Pfeffer'sche Methode nicht an, da sie mir erst nach Abschluss meiner Arbeiten bekannt wurde und ich ausserdem nicht auf ein Gebiet mich einlassen wollte, wo von Seiten Pfeffers erst eine vorläufige Mittheilung vorlag.

Vielleicht empfiehlt es sich, bei Pflanzentheilen mit farblosem Zellsaft dieselben mit verdünntem Alkohol zu extrahiren, da hierbei das Protoplasma in einer Weise gefällt wird, dass es seine alkalischen Salze nicht abgibt und doch zugleich die Stoffe des Zellsaftes austreten können. Die gefundene Säuremenge wird hier möglicher Weise etwas zu klein ausfallen im Vergleich zu der wirklichen Säuremenge im Zellsaft, da gewisse Theile des Protoplasmas, ebenso wie sie Gerbstoff speichern können, auch die Pflanzensäuren festzuhalten vermögen.

Abgesehen von diesen directen Methoden können wir in einer Reihe von Fällen uns auf indirektem Wege von der Acidität des Zellsaftes überzeugen. Der aus angeschnittenen Zellen und zerquetschten Pflanzentheilen austretende Saft wird von einer Reihe von Autoren als Zellsaft bezeichnet, aber mit Unrecht. Wir wählen den allgemeineren Namen „Pflanzensaft", da die Flüssigkeit sowohl die Stoffe des eigentlichen Zellsaftes als auch Stoffe aus dem Protoplasma enthält. In Pflanzentheilen, wo die Menge des Protoplasmas, der Eiweissstoffe und der darin enthaltenen Alkaliverbindungen überwiegt, wird die ausgepresste Flüssigkeit alkalisch reagiren, während umgekehrt, wenn der Zellsaft in den Vordergrund tritt, die saure Reaction sicher zu constatiren ist. Da das Protoplasma immer alkalisch reagirt, so muss bei saurer Reaction des ausgepressten Pflanzensaftes auch der Zellsaft sauer gewesen sein. Ist dagegen der aus den verletzten Zellen austretende Saft alkalisch, so ist damit noch gar nicht entschieden, ob der Zellsaft ebenfalls alkalisch war oder ob er nur durch die Stoffe des Protoplasmas neutralisirt wurde.

So fand schon Sachs[1]), dass an den jüngsten Theilen der Pflanzen und im Siebtheil (Leitzellen, wie es im Original heisst) der Gefässbündel der austretende Saft alkalisch, sonst immer sauer reagirte. Die genannten Gewebe sind aber besonders reich an Protoplasma und Eiweissstoffen, daher die Reaction. Aber auch an Vegetationspunkten, namentlich an Laubknospen, findet man Zellen, die gefärbten Zellstoff enthalten. Der letztere ist roth, also sauer. Da ausserdem in dem von Vegetationspunkten entnommenen Saft Säuren nachgewiesen sind, so darf man wohl annehmen, dass dieselben ebenfalls wie in den älteren Zellen aus dem Zellsaft kommen. Ueber die Säuremenge ist natürlich nichts zu sagen.

---

1) Bot. Zeitung. 1862. p. 257—265.

Bei G. Kraus[1]), der mit zerriebenen Pflanzentheilen operirte, handelt es sich ebenfalls um ein Gemisch von saurem Zellsaft und alkalischem Protoplasma. Er fand den ausgepressten Saft immer sauer reagirend, wenn auch in verschiedenem Grade, also dürfen wir annehmen, auch der Zellsaft sei immer sauer gewesen. Zweifelhaft scheint mir nur die Richtigkeit einer Angabe, welche sich auf die Acidität des Saftes aus blauen Blüthen bezieht. Da der blaue Zellsaft uns eine alkalische Reaction anzeigt, das Protoplasma ebenfalls alkalisch reagirt, so kann ich nicht angeben, woher die saure Reaction kommt, wenn nicht nachträglich Umsetzungen, eventuell durch Absorption von Kohlensäure, eingetreten sind. Namentlich beim Titriren, wie dies von Kraus geschehen, mit Phenolphtalein als Indicator, das auch auf CO_2 reagirt, ist eine Täuschung möglich.

Ich halte daher die Angaben von Vogl[2]), welcher bei blauen Blüthen vollkommen neutrale oder sogar schwach alkalische Reaction beobachtet hat, für richtiger.

Während Gregor Kraus durchgehends für die Säfte des Parenchyms saure Reaction annimmt, fand C. Kraus (Triesdorf)[3]), dass der aus Parenchymzellen gewonnene Saft häufig amphotere Reaction zeigt, d. h. rothes Lakmuspapier blau färbte, blaues Lakmuspapier dagegen röthete. Er untersuchte ebenfalls die aus verletzten Zellen hervortretende Flüssigkeit und gerade die amphotere Reaction beweist uns, dass eine Mischung von Zellsaft und Plasmasalzen vorlag, da bekanntlich ein Gemisch des sauer reagirenden Monokaliumphosphats mit dem wahrscheinlich im Plasma vorkommenden Dikaliumphosphat, welches alkalisch reagirt, amphotere Reaction zeigt. Ausserdem fand C. Kraus den ausgepressten Saft noch alkalisch oder sauer, was durch das Vorwiegen des Plasmas oder des Zellsaftes leicht zu erklären ist. Trotz der Fehler, welche den genannten Arbeiten anhaften, müssen wir, insofern das Protoplasma immer alkalisch ist, annehmen, dass die gefundenen Säuren sich immer im Zellsaft befinden.

Ausserdem wurde durch die Arbeiten von G. Kraus, C. Kraus, Warburg und De Vries eine andere Thatsache festgestellt, welche für uns von Interesse ist. Die Säuremenge in den Pflanzen und demnach auch im Zellsaft ist eine sehr wechselnde. In erster Linie kommt dabei das Alter und das Entwicklungsstadium des betreffenden Pflanzentheils in Betracht, insofern als ältere Zellen im Allgemeinen mehr Säure enthalten als jüngere. Diese allmählige Anhäufung von Säuren bewirkt, dass beim Verletzen von Zellen, wobei die Säuren des Zellsaftes direkt auf die Eiweissstoffe des Plasmas wirken, in älteren Zellen oft Fällungen eintreten, während dieselben Stoffe in jüngeren Entwicklungsstadien sich als löslich erweisen. Ferner

1) G. Kraus, Die Acidität des Zellsaftes. Sonderabdruck a. d. Abhandlungen der naturforschenden Gesellschaft zu Halle. Bd. XVI. 1884. p. 10.

2) Vogl, Sitzungsberichte der Münchener Academie. 1879. Bd. IX. pag. 20.

3) Bot. Centralblatt Bd. XXI. No. 12. 1885. pag. 373 und Berichte der deutschen bot. Gesellschaft Bd. III. p. XX—XXVI.

ist der Säuregehalt von äusseren Umständen beeinflusst, die auf das Protoplasma wirken und täglich Schwankungen hervorrufen können. Die Pflanzensäuren sind nach Warburg Producte der Athmung, sie werden also von dem bei der Athmung activ betheiligten Protoplasma erzeugt und dann in den Zellsaft abgeschieden, sie können aus demselben jedoch wieder verschwinden, d. h. vom Plasma weiter verarbeitet werden. Es besteht also ein Stoffwechsel zwischen Protoplasma und Zellsaft, welcher uns den letzteren gewissermaassen als ein Reservoir für bestimmte Stoffe erscheinen lässt.

§ 3. Methoden die alkalische Reaction des Protoplasmas nachzuweisen. — Eigenschaften des im Braunkohl vorkommenden Farbstoffes.

Da eine getrennte Untersuchung von Zellsaft und Protoplasma nicht möglich ist, kann man die Resultate der Aschenanalysen nicht ohne Weiteres zur Bestimmung der Protoplasmareaction verwenden. Es wäre dies höchstens in einzelnen Fällen zulässig, wo die Menge des Zellsaftes im Vergleich zum vorhandenen Protoplasma verschwindend klein ist, so z. B. an Vegetationspunkten und Schleimpilzen.

Die einfachste Art, die Alkalinität des Protoplasmas nachzuweisen war, dasselbe mit Farbstoffen zu tingiren, die schon für geringe Reactionsänderungen empfindlich sind. Zur Zeit, wo ich meine Untersuchungen vornahm, schloss ich mich der allgemein gültigen Anschauung an, dass lebendes Protoplasma keinen Farbstoff aufnehme und verwendete daher nur todtes Protoplasma zur Reaction. Dabei war es wesentlich, eine Tödtungsart anzuwenden, bei welcher die alkalischen Stoffe aus dem Plasma nicht heraus diffundirten und zugleich das Plasma selbst möglichst gut färbbar gemacht wurde. Bei nicht mit Wasser durchtränkten Pflanzentheilen, z. B. trockenen Samen genügte es, dünne Schnitte längere Zeit in einer neutralen oder schwach sauren Lösung des von mir angewendeten Kohlfarbstoffes liegen zu lassen. Die Tinction selber gelingt besser nach vorheriger kurzer Behandlung der Schnitte mit Alkohol. Bei der Untersuchung turgescenter Gewebe ist eine Tödtung durch Säure selbstverständlich zu vermeiden, ebenso sind Metalloxyde sowie Stoffe, welche den Farbstoffindicator verändern, unbrauchbar. Erwärmen ist auch nicht vortheilhaft, da hierdurch, wie ich mich durch Versuche überzeugte, leicht die alkalischen Stoffe aus dem Protoplasma entfernt werden. Mit Erfolg kann man dagegen kurze Zeit durch Alkohol fixirtes Material anwenden, am besten geschieht die Tödtung jedoch auf electrischem Wege, wodurch zugleich die Möglichkeit gegeben ist, die Färbung des Plasmas unter dem Mikroskope zu verfolgen.

Ich verfuhr dabei folgendermaassen: Auf einem Objectträger wurden 1—2 mm von einander entfernt 2 breite Staniolstreifen durch in Spiritus gelösten Siegellack aufgeklebt. Zwischen diese Streifen wurde der Schnitt mit unverletzten Zellen oder die abgezogene Epidermis angebracht u. z. so, dass

dieselben auf dem Staniol auflagen. Bei Pflanzentheilen mit gefärbtem Zellsaft lagen die Schnitte in Wasser, da hier der Farbstoff des Zellsaftes als Indicator diente, bei ungefärbten Zellen wurde ein Zusatz der aus Braunkohl gewonnenen, später zu beschreibenden Farbstofflösung nothwendig. Nach dem Auflegen des Deckglases wurde der Objectträger unter das Mikroskop gebracht. Die den Strom zuführenden Drähte wurden auf die freien, unter dem Deckglas hervorragenden Stanioltheile aufgesetzt und zugleich mit einem Du Bois-Reymond'schen Inductionsapparat mit constanter Stromunterbrechung und einem ziemlich starken Element in Verbindung gebracht.

Der vorhandene Strom genügte binnen kurzer Zeit, die Zellen zu tödten und so das Plasma für den Farbstoff tingirbar zu machen. Ein Unterschied zwischen den beiden Eintrittstellen des Stromes war nicht vorhanden und da die Resultate an den electrisch getödteten Zellen mit den auf anderem Wege gefundenen Ergebnissen übereinstimmten, dürfen wir annehmen, dass die Alkalinität des Protoplasmas schon ursprünglich vorhanden ist, nicht etwa erst durch die Zersetzung von Verbindungen durch den electrischen Strom hervorgerufen wird.

Als Indicator für die Reaction des Zellinhaltes ist fast durchgehends der im Zellsaft vorkommende Farbstoff verwendbar, der bei saurer Reaction roth, bei alkalischer Reaction blau ist. Der rothe Farbstoff wird nicht, wie Kabsch[1]) behauptet, durch den electrischen Strom zerstört und zersetzt, sein Verschwinden aus der Zelle bei Anwendung schwacher electrischer Ströme ist dadurch verursacht, dass er aus der Zelle leicht in die umgebende Flüssigkeit diffundirt und dort wegen der grossen Verdünnung nicht mehr deutlich zu sehen ist. Doch hat auch schon Kabsch an verletzten Blumenblättern von *Aquilegia, Vinca, Viola, Delphinium* und *Campanula* nach dem Durchschlagen des Funkens statt des schönen Violettblau eine dunklere oder hellere blaugrüne Farbe — d. h. eine Verfärbung durch das Alkali des Protoplasmas auftreten sehen. Auch Kühne[2]) fand gelegentlich der Einwirkung electrischer Ströme auf die Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica*, dass der Farbstoff des Zellsaftes das todte Plasma tingire.

Für unsere Zwecke nicht verwendbar ist der übrigens nur selten, z. B. in der rothen Rübe vorkommende Farbstoff, der sich mit Alkalien nicht blau färbt, vielmehr durch schwaches Alkali farblos, durch starkes Alkali gelb wird. Beim Ausbleiben der Blaufärbung des Plasmas hat man sich also zunächst zu überzeugen, ob der im Zellsaft vorhandene Farbstoff durch Alkalien überhaupt blau gefärbt wird.

Bei der Untersuchung von Zellen mit farblosem Zellsaft erhielt ich die besten Resultate bei Zusatz des Farbstoffs aus dem Braunkohl (*Brassica oleracea* var. *crispa* Garcke), der dem gewöhnlichen roth-blauen Farbstoff des Zellsaftes wohl sehr nahe steht, wenn nicht identisch mit demselben ist.

[1]) Bot. Zeitung. 1861. p. 363.

[2]) Untersuchungen über das Protoplasma. 1864. p. 96.

Dieser Kohlfarbstoff zeichnet sich durch eine grosse Empfindlichkeit gegen Alkalien und alkalische Salze aus, worin er Lakmus und andere Indicatoren entschieden übertrifft. Bei den kleinen Mengen von alkalisch reagirenden Stoffen, welche in einem mikroskopischen Schnitt vorhanden sind und wirken, ist eine solche Empfindlichkeit dringend geboten. Ausserdem giebt der Kohlfarbstoff mit Säuren und Alkalien je nach der Stärke der Reaction verschiedene Farben, wodurch es uns möglich ist die Stärke der eingetretenen alkalischen Reaction des Plasmas wenigstens abzuschätzen.

Wir finden folgende Abstufungen.

Reaction:	**Farbe des Kohlfarbstoffes:**
stark sauer	gelbroth
sauer	purpurroth
schwach sauer	rothviolett
neutral	violett
schwach alkalisch	blau bis blaugrün
stärker alkalisch	grasgrün
concentrirtes Alkali	gelb — gelborange.

Die Gelbfärbung durch zu starkes Alkali beruht auf einer Zerstörung des Farbstoffes, denn durch Säurezusatz wird die blaue und rothe Farbe nicht wieder hergestellt, während bei den übrigen Nuancen eine Umwandlung in die entsprechende Farbe durch Zusatz von Säuren resp. Alkalien immer wieder möglich ist. Durch sehr concentrirte Säuren ist der Farbstoff weniger leicht zerstörbar, als durch Alkalien, wenn er auch bei längerer Wirkung namentlich von concentrirten Mineralsäuren zersetzt wird.

Einen weiteren Vortheil, den ich bei der Frage verwerthen konnte, welche Stoffe das Plasma alkalisch machen, bietet der Farbstoff dadurch, dass er sich mit freiem Alkali anders färbt als mit gewissen hier in Betracht kommenden Alkalisalzen.

Aetzkali führt den rothen Farbstoff je nach der Menge des Zusatzes in blau, in grün, schliesslich in gelb über. Anders verhalten sich die Salze der Alkalien.

K_3PO_4, Trikaliumphosphat, auch als neutrales phosphorsaures Kali bezeichnet, reagirt auf Lakmus stark alkalisch, es färbt unseren Kohlfarbstoff spahngrün, ohne ihn jedoch auch bei stärkerem Zusatz zu zerstören, färbt ihn also niemals gelb.

K_2HPO_4, Dikaliumphosphat, auch als einfach saures phosphorsaures Kali bezeichnet, wirkt auf Lakmus oder Curcuma wie Alkali, färbt auch bei ziemlich starkem Zusatz den Kohlfarbstoff nur blau — blaugrün und erst bei höherer Concentration rein grün, ohne ihn jedoch zu zerstören.

KH_2PO_4, Monokaliumphosphat, auch doppeltsaures phosphorsaures Kali genannt, reagirt auf Lakmus sauer, färbt in kleinen Mengen den Kohlfarbstoff rothviolett, bei stärkerem Zusatz roth.

Die Gewinnung des Farbstoffes aus Kohlblättern ist sehr einfach. Da derselbe hauptsächlich in der Epidermis zu finden ist, zieht man dieselbe

von den Blattstielen ab und erwärmt langsam mit Wasser auf circa 45—55° C. Der Farbstoff diffundirt bei dieser langsamen Tödtung aus den Zellen in die umgebende Flüssigkeit, ohne dass zu viel vom Plasma absorbirt würde. Man kann jedoch auch, die ganzen Kohlblätter in Stücke geschnitten, mit warmen Wasser extrahiren, nur bekommt man dann zu viel andere Extractivstoffe mit in die Farbstofflösung. Eine stärkere Erwärmung als die oben angegebene ist zu vermeiden, da man sonst durch Extraction von anorganischen Stoffen aus dem Plasma eine stärker alkalische blaue bis blaugrüne Färbung erhält. Es ist gut die von den Pflanzentheilen abfiltrirte Farbstofflösung durch Aufkochen von den erst bei höherer Temperatur coagulirbaren Proteinstoffen zu reinigen. Da jedoch noch andere organische Stoffe zurückbleiben und die Farbstofflösung daher der Fäulniss unterworfen ist, wir ausserdem zum Nachweis der alkalischen Reaction des Plasmas eine saure Lösung bedürfen, setzt man etwas Säure zu, am besten Salicylsäure, welche nicht stark sauer reagirt und die Lösung haltbar macht.

Die nach Abschluss meiner Untersuchungen von Pfeffer[1]) publicirte Methode, durch Aufsaugen von verdünntem Cyanin durch lebende Zellen die Alkalinität des Protoplasmas zu beweisen, wollte ich nicht anwenden, bevor Pfeffer die in dieser vorläufigen Mittheilung angezeigte Abhandlung über die Stoffaufnahme veröffentlicht hatte.

§ 4. Ergebnisse der Untersuchung über die Reaction des Protoplasmas.

Betrachten wir zunächst die Resultate, welche wir mittelst der eben angegebenen Methode der electrischen Tödtung erhalten haben. Ich verwendete mikroskopische Schnitte durch die Pflanzentheile oder Stücke der abgezogenen Epidermis, die unverletzte Zellen enthalten mussten, wenn die Reaction deutlich hervortreten sollte. Lagen Zellen mit rothem, saurem Zellsaft vor, war die Erscheinung viel frappanter, als bei Zellen mit blauem, alkalischem Zellsaft, die ersteren Objecte (vgl. pag. 23 ff.) dürften sich daher besonders zur Demonstration des Vorganges eignen. Der Farbenwechsel, der uns auf die alkalische Reaction des Plasmas schliessen lässt, vollzieht sich direkt vor unseren Augen, indem sich das Protoplasma nicht roth wie der Zellsaft, sondern blau färbt. Häufig tritt vor der Färbung des Protoplasmas aus demselben eine gewisse Menge alkalischer Stoffe in den Zellsaft über, welche genügt, denselben blau zu färben. Auch bei den Zellen mit blauem oder blauviolettem Zellsafte macht sich die Alkalinität des Protoplasmas geltend, indem letzteres eine mehr blaugrüne Färbung annimmt, welche auf eine Verstärkung der alkalischen Reaction schliessen lässt.

Nur sehr selten, z. B. bei einigen jungen blauen Hyacinthenblüthen geht dies soweit, dass das Grün rein d. h. ohne Beimischung einer blauen Nuance

1) Bot. Zeitung. 1886. p. 123.

erscheint, eine gelbgrüne Färbung wie sie reines Alkali hervorbringt, kommt niemals zu Stande. In dem ersten Falle handelt es sich um Neutralisation saurer Säfte, im zweiten Falle um Verstärkung der alkalischen Reaction. Niemals wurde umgekehrt der blaue Zellsaft durch das Protoplasma geröthet. Naturgemäss hat auf die Umwandlung der rothen in die blaue Farbe sowohl die Menge des im Plasma vorhandenen Alkalis, als die Menge der im Zellsaft vorhandenen Säure einen bedeutenden Einfluss. Im Allgemeinen kann man annehmen, dass je mehr Protoplasma in den Zellen enthalten ist, desto mehr Alkali vorhanden ist und desto besser tritt die alkalische Reaction zu Tage. Junge Pflanzentheile eignen sich daher am besten zum Nachweis. Bei älteren Pflanzentheilen nimmt nicht nur die Menge des Protoplasmas ab und damit die Quantität der alkalischen Stoffe, sondern es nimmt auch der Säuregehalt zu; trotzdem genügen meistens auch dann noch die im Protoplasma vorhandenen Stoffe, die alkalische Reaction hervorzurufen. Erschwert wird der Nachweis hauptsächlich dadurch, dass die Tinctionsfähigkeit des Inhaltes älterer, substanzarmer Zellen bedeutend abnimmt, wie denn überhaupt, in den Fällen, wo man zweifelhaft sein konnte, die geringe Tinctionsfähigkeit eine genaue Entscheidung ausschloss. Dazu kommt noch, dass manchmal z. B. beim Blumenblatt von *Franciscea eximia* im Zellsaft kugelige Körper ausgefällt wurden, welche auf den Farbstoff stärker anziehend wirkten als das Protoplasma, welches dann ungefärbt blieb. Desgleichen ist der Nachweis erschwert bei Zellen, die sehr wenig Farbstoff enthalten.

Die Methode, die vorher mit Alkohol behandelten Pflanzentheile durch schwach saure Farbstofflösung zu färben, gab dieselben Resultate, nur war die Tinctionsfähigkeit geringer als bei dem auf electrischem Wege getödteten Material. Ebenso gelang es an Zellen, welche durch Druck, Verletzung oder Erhitzen getödtet waren, die alkalische Reaction des Protoplasmas nachzuweisen.

Trotz der angegebenen Schwierigkeiten lässt sich die Alkalinität des Protoplasmas an allen Theilen und Organen der Pflanzen nachweisen. Ich untersuchte Stengel und Wurzeln, Blätter und Blüthentheile, auch Samen und Früchte: immer wieder dieselbe Reaction, wenn auch nicht immer mit derselben Schärfe. Also trotz der Verschiedenheit der Funktionen der einzelnen Pflanzentheile bewahrt das Protoplasma seine alkalische Reaction, was uns darauf schliessen lässt, dass für die physikalischen Eigenschaften und die physiologischen Funktionen desselben, dieser Gehalt an Alkali von Bedeutung ist.

Aber nicht nur für die Plasmata verschiedener Pflanzenorgane herrschte Uebereinstimmung, sondern auch für die einzelnen Theile des Zellinhaltes. Am leichtesten war der Nachweis für den Zellkern, indem derselbe am besten den Farbstoff aufnahm. An günstigen Objecten z. B. an Braunkohlblattstielen, bei Keimlingsstengeln von *Brassica napus*, bei *Primula japonica* (Stengel) u. a. liess sich constatiren, dass nicht nur das Chromatin und die Nucleolen, sondern auch die Gerüstsubstanz alkalisch reagirten.

Bei weniger günstigen Objecten färbte sich besonders das Chromatin und die Nucleolen.

Diese Blaufärbung der Kerne bei rothem Zellsaft hat für einzelne Fälle schon G. Kraus[1]) beobachtet, ohne die Sache weiter zu verfolgen. Ebenso erwähnt Schmitz[2]), dass beim Tingiren von Zellkernen dieselben sich oft anders färben, als die zugesetzte Färbeflüssigkeit, dass bei Zusatz roth gefärbter Haematoxylinlösung die Kerne sich manchmal violett, ja geradezu blau färbten.

Ist genügende Menge von Farbstoff vorhanden und die Zellsubstanz gut tingirbar, so färben sich auch die übrigen Theile des Zellinhaltes, das Cytoplasma, in demselben besonders die Microsomen, die Chlorophyllkörner und Stärkebildner mit einer der Alkalinität entsprechenden Farbe.

Auch in Samen zeigte Cytoplasma und Kern alkalische Reaction, dagegen blieben in einigen Fällen z. B. der Kleber der Gerste, sowie die Eiweisssubstanz von Saubohnen ungefärbt, trotzdem sie circa 24 Stunden in der Färbeflüssigkeit lagen. In anderen Fällen, z. B. bei Wicken- und Erbsensamen färbten sich auch die Aleuronkörner ausser dem Protoplasma mit dem Kohlfarbstoffe blau.

Ich glaubte die Alkalinität des Protoplasmas der Samen besonders betonen zu müssen, da Ritthausen[3]) angibt, dass unter anderem der wässerige Auszug aus Saubohnen *(Vicia faba)* stark sauer reagire, ebenso das angefeuchtete Pulver aus diesen Samen. Bei Erbsen ist die Stärke der sauren Reaction des wässerigen Auszuges verschieden, theilweise reagirt der Auszug neutral, je nach der gewählten Erbsenvarietät.

Die Angaben Ritthausen's konnte ich bestätigen, doch glaube ich, muss man die saure Reaction nicht auf das Protoplasma beziehen, sondern auf den Rückstand des Zellsaftes, der ja auch nach dem Trocknen der Samen und dem Wiederanfeuchten unverändert bleiben kann. Dagegen, dass das Protoplasma und die eingelagerten Eiweisskörper die saure Reaction hervorrufen, spricht erstens die Blaufärbung an Schnitten, zweitens aber die Inconstanz der sauren Reaction, die ja nach Ritthausen ganz verschwinden kann, ja ich fand sogar bei Erbsen auch ganz schwach alkalische Reaction des kalten wässerigen Auszugs. Die Eiweissstoffe der verschiedenen Erbsenvarietäten können nur ganz unbedeutend differiren, weshalb der in allen vorkommende Eiweissstoff, wie Ritthausen annimmt, das Legumin vermöge seines Phosphorsäuregehaltes die saure Reaction des Auszugs nicht hervorrufen kann. Dieselbe müsste dann constant auftreten, da dieser Legumin-artige Stoff immer vorhanden ist. Für den stark sauer reagirenden Auszug

---

[1]) G. Kraus, Sitzungsberichte der naturforsch. Gesellschaft zu Halle. Sitzung vom 23. Febr. 1884. p. 6 d. Sep.

[2]) Ueber die Struktur des Protoplasmas und der Zellkerne. Sitzungsber. der niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde. 1880. pag. 2. Anmerkung.

[3]) H. Ritthausen, Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte und Oelsamen. 1872. p. 158—162 und 169.

aus gelben Lupinen nimmt Ritthausen[1]) übrigens an, dass es durch einen beträchtlichen Gehalt an sauren Salzen der Oxalsäure, Citronensäure oder Aepfelsäure hervorgerufen sei. Diese Säuren kommen aber nicht im Protoplasma, sondern im Zellsaft vor, denn das Protoplasma reagirt alkalisch. Es ordnen sich diese Fälle nach meiner Ansicht den Ergebnissen aus saftreichen Pflanzentheilen unter, wo wir ebenfalls trotz der sauren Reaction des ausgepressten Saftes eine alkalische Reaction des Protoplasmas fanden.

Zur besseren Uebersicht lasse ich ein Verzeichniss der untersuchten Pflanzen und Pflanzentheile folgen mit den Angaben der Farbe des Zellsaftes, woraus man auf die Reaction desselben schliessen kann und mit Bemerkungen, ob die alkalische Färbung des Protoplasmas mehr oder weniger deutlich zu sehen war. Bei farblosem Zellsafte wurde eine schwach saure Lösung des Kohlfarbstoffes hinzugefügt. Was die Methode anbelangt, so bedeutet E. Tödtung auf electrischem Wege, A. durch Alkohol mit darauf folgendem Einlegen in die Farbstofflösung, H. Tödtung durch Erhitzen, V. einfache Verletzung durch Druck oder Zerreissen.

Stengeltheile:

Pflanze.	Zellsaft.	Methode der Tödtung.	Blaufärbung des Plasmas.
Primula japonica	roth od. farbl.	—	deutlich.
Brassica oleracea v. crispa Garcke (Braunkohl)	rothviolett.	E, A, H.	sehr deutlich.
Brassica napus L. (Rapskeimling)	—	A.	deutlich.
Lupinus luteus, Hypocotyl	—	A.	deutlich.
*Vicia sativa, Epicotyl	—	A.	Plasma violett.
Impatiens parviflora	roth.	V.	deutlich.
Episcia metallica	roth.	E.	sehr deutlich.
Asparagus officinalis	rothviolett.	E.	Zellsaft blauwerdend.
— —	—	A.	Plasma wenig gefärbt.
Solanum tuberosum	rothviolett.	V.	sehr deutlich.

Wurzeln:

Pflanze.	Zellsaft.	Methode der Tödtung.	Blaufärbung des Plasmas.
Phaseolus multiflorus	—	A.	deutlich.
Elodea canadensis	—	A.	deutlich.
Pisum sativum	—	A.	ziemlich deutlich.
Salix viminalis	—	A.	gering.
Monstera deliciosa, Luftwurzel	—	A.	gering.
Chlorophytum inornatum, Luftwurzel	—	A.	wenig Plasma vorhanden, Färbung deutlich.

Laubblätter:

Pflanze.	Zellsaft.	Methode der Tödtung.	Blaufärbung des Plasmas.
Brassica oleracea v. crispa	rothviolett.	E, A, H.	sehr deutlich.
Begonia zebrina	roth.	E.	Zellsaft wird schwach blau.
Siningia nigra	roth.	E.	Zellsaft violett, Plasma nach längerem Durchleiten des Stromes blau.

[1]) l. c. p. 188.

Laubblätter:

Pflanze.	Zellsaft.	Methode der Tödtung.	Blaufärbung des Plasmas.
Maranta princeps	roth.	E.	sehr deutlich, bis zum Grün gehend.
Calathea illustris	roth.	E.	sehr deutlich, bis zum Grün gehend.
Hyacinthus orientalis	—	A.	deutlich.
Narcissus tazetta.............	—	A.	deutlich.
Ficus barbata (jung)..........	roth.	V.	deutlich.
Rumex hamatus..............	intensiv roth.	E, A.	sehr deutlich.
*Acer campestris (Blattstiel)....	ziegelroth.	E.	Zellsaft wird violett, Plasma wenig gefärbt.
*Tradescantia zebrina..........	violett.	E.	violette Färbung.
*Begonia coelebogynifolia	roth.	E.	Zellsaft violett.
*Saxifraga peltata.............	roth.	E.	keine Veränderung.

Blumenblätter:

Pflanze.	Zellsaft.	Methode der Tödtung.	Blaufärbung des Plasmas.
Crocus vernus	violett.	E.	deutlich, im Zellsaft Kugeln den Farbstoff anziehend.
Hyacinthus orientalis	blauviolett	E.	sehr deutlich bis grünblau.
— — junge Blüthe	—	A.	deutlich.
— —	roth.	E.	gering, Zellsaft wird violett.
Scilla sibirica	reinblau	E.	sehr deutlich, auch nach Ansäuern des Zellsaftes.
Hemerocallis fulva	roth.	E, V.	deutlich.
Muscari Scovitzianum	blau od. violett.	A.	deutlich.
Orobus vernus	rothviol. oder blaugrün.	E.	gering.
Dicentra spectabilis...........	roth.	E.	gering.
Cydonia japonica.............	roth.	E.	gering.
Viola alpestris...............	blauviolett.	E.	gering, Zellsaft wird blaugrün.
Rhododendron indicum........	violett.	E.	sehr gering.
Aquilegia viscosa	blauviolett.	E.	sehr deutlich, auch bei Ansäuerung des Zellsaftes mit 0,2% Essigsäure.
*Iris pumila	violett.	E.	Plasma violett, bei stärkeren Strömen blau.
*Pelargonium zonale...........	roth.	E.	Zellsaft violett gefärbt.
*Franciscea eximia	violett.	E.	Plasma rothviolett.

Samen:

Pflanze.	Zellsaft.	Methode der Tödtung.	Blaufärbung des Plasmas.
Lupinus luteus, Cotyledonen...	—	A.	deutlich.
Pisum sativum, gekeimt u. ungek.	—	A.	ziemlich deutlich.
Vicia sativa, gekeimt u. ungekeimt	—	A.	gering.
Vicia faba (minor)	—	A.	gering.
Hordeum vulgare.............	—	A.	sehr deutlich (bis auf die Kleberschicht).
Polygonum fagopyrum........	—	A.	sehr deutlich.
Cucurbita pepo	—	A.	ziemlich deutlich.
Zea mais (Embryo u. Endospermzellen)	—	A.	sehr deutlich (Zellmembran roth gefärbt).

Verschiedene Pflanzentheile.	Zellsaft.	Methode der Tödtung.	Blaufärbung des Plasmas.
Ardisia crenulata, Beere	ziegelroth.	E.	gering, Zellsaft violett.
Ilex aquifolium, Beere	roth.	E.	gering, rothviolett.
Primula japonica, Haare des Stengels	roth.	E.	deutlich.
*Dalechampia Roezlianum, Vorblatt der Blüthe	roth.	E.	Zellsaft nur sehr wenig violett werdend, Plasma ungefärbt.
*Saxifraga Bergeni, Fruchtknotenepidermis	ziegelroth.	E.	Plasma ungefärbt, Zellsaft unverändert.
Rheum hybridum, Hüllblatt der Büthe	roth.	E.	Plasma nur sehr wenig blau; erst nach längerem Liegen in Farbstofflös.

Die in dieser Tabelle mit Sternchen versehenen Pflanzen sind jene, an welchen die alkalische Reaction des Plasmas nicht oder nur unvollständig nachzuweisen war. Wir haben jedoch theilweise Uebergänge zu dem normalen Verlauf der Reaction vor uns. Während sonst das Protoplasma oder doch der Zellsaft sich blau färbte, wird in diesen Ausnahmen das Protoplasma nur violett oder gar nicht gefärbt, während der Zellsaft ebenfalls nicht bis zur Alkalinität gebracht wird, sondern nur die Neutralfarbe violett annimmt oder sich gar nicht verändert. Die Ursachen dieser Erscheinung sind bei den bezeichneten Pflanzentheilen nicht dieselben. Bei der Fruchtknotenepidermis von *Saxifraga Bergeni* und der Epidermis der Blattunterseite von *Saxifraga peltata,* wo gar keine Veränderung beim Durchleiten des Stromes eintrat, müssen wir annehmen — die ziegelrothe Färbung weist uns darauf hin, — der Zellsaft sei zu sauer gewesen, um durch das Alkali der geringen Plasmamenge neutralisirt zu werden. Die zu geringe Menge von Plasma resp. Alkali mochte ebenfalls der Grund sein, warum bei dem Vorblatt der Blüthe von *Dalechampia Roezlianum*, beim Laubblatt von *Begonia coelebogynifolia,* beim Blattstiel von *Acer campestris,* bei den Blumenblättern von *Pelargonium zonale* nur Neutralisation des Zellsaftes eintrat.

Anders verhält es sich bei den violetten Blüthen von *Iris pumila*, den Blättern von *Tradescantia zebrina*, dem Epicotyl von *Vicia sativa.* Hier ist dem violetten Zellsaft zufolge derselbe neutral und trotzdem tritt bei Tödtung durch schwache Ströme meist nur Violettfärbung von Kern und Plasma ein. Einen Anhaltspunkt zur Erklärung dieser Thatsache gibt uns die Beobachtung, dass bei stärkeren Strömen sich das Plasma dennoch blau färbt. Auch bei den durch Druck getödteten Zellen oder bei den durch sehr verdünnte Essigsäure getödteten Zellen finden wir an *Iris pumila* theilweise blau gefärbtes Protoplasma. Es scheint mir demnach, als ob das Alkali in einer Weise an Eiweissstoffe gebunden sei, dass die alkalische Reaction des ganzen Plasmas nicht ohne Weiteres zu erkennen ist, sondern

erst nachdem diese Verbindung mit der vollständigen Zerstörung der chemischen Struktur gelöst ist. In der That binden nach den Untersuchungen von Danilewsky[1]) manche Eiweissstoffe Basen derartig, dass sie auf gewisse Indicatoren wie Tropaeolin 000 No. 1 nicht mehr reagiren, während freies Alkali diesen gelben Farbstoff roth färbt.

Diesen scheinbaren Ausnahmen gegenüber möchte ich nochmals hervorheben, dass in keinem Falle sich das Protoplasma roth färbte, sondern in jenen Fällen, wo nicht einmal der Zellsaft alkalisch wurde, färbte sich das Protoplasma gar nicht. Aus einem derartigen negativen Befunde ist man aber nicht berechtigt zu schliessen, dass das Protoplasma in einzelnen Fällen sauer reagire.

§ 5. Der Alkaligehalt des Protoplasmas und die Aschenanalysen.

Es bleibt nun noch übrig, unser Resultat, dass das Protoplasma es sei, welches den hervorragenden Theil der Alkalien enthalte, mit den vorhandenen Aschenanalysen zu vergleichen. Wir halten uns dabei an die Thatsache, dass ältere Pflanzentheile geringere Mengen von Protoplasma enthalten als junge Pflanzentheile. Dies lehrt uns schon der mikroskopische Befund, indem das Cytoplasma in den Jugendstadien die ganze Zelle erfüllend, später bei der Zellstreckung sich nicht mehr bedeutend vermehrt, sondern nur mehr einen Wandbelag bildet, der nach und nach, trotzdem die Volumvergrösserung der Zelle aufgehört hat, immer dünner wird. Eine gleiche Substanzabnahme in älteren Zellen konnte ich für den Zellkern nachweisen[2]). Auch bei den Chlorophyllkörpern tritt beim Erlöschen der Funktion Verminderung der protoplasmatischen Substanz ein. Da wir bisher nicht zwischen eigentlichem activen Protoplasma und den darin als Nährungsstoff (ähnlich wie Stärke- und Oeleinschlüsse) vorkommenden Eiweisssubstanzen unterscheiden können, so werden Zellen, in denen Ablagerung oder Durchleitung von Eiweissstoffen stattfindet, naturgemäss eine Ausnahmsstellung einnehmen und Ausnahmen bilden von der Regel, dass die Menge des Protoplasmas in den Zellen mit dem Alter abnimmt.

Eine Controlle des mikroskopischen Befundes ist uns durch die Menge der stickstoffhaltigen Substanz gegeben, die in älteren nicht zur Aufspeicherung dienenden Zellen resp. Pflanzentheilen abnimmt. Es wäre jedoch falsch, wollte man glauben, die Stickstoffmenge gebe ein genaues Bild der vorhandenen Plasmamenge, es können sehr wohl stickstoffhaltige Substanzen, z. B. Amidosäuren und Amide im Zellsaft vorkommen, trotz geringer Menge von Plasma.

Mit dieser Abnahme des Protoplasmas geht Hand in Hand eine Verminderung des Kaligehalts in der Pflanze und fast immer auch des Phosphor-

[1]) Centralblatt f. d. medic. Wiss. 1880. No. 51.

[2]) F. Schwarz, Beitrag zur Entwickelungsgeschichte des pflanzlichen Zellkerns nach der Theilung, in Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen. 1885. Bd. IV, Heft 1, p. 79 ff.

gehaltes[1]), während die Quantität des Kalks mit dem Alter zunimmt. Die uns zu Gebote stehenden Aschenanalysen, hauptsächlich von land- und forstwirthschaftlichen Pflanzen herrührend, geben uns nur theilweise genaue Werthe für den Aschengehalt der ganzen Zelle.

Betrachten wir zunächst die Aschenanalysen von ganzen Pflanzen oder von Pflanzentheilen, welche zugleich fortwachsende und ausgewachsene Zonen in verschiedenen Entwicklungsstadien enthalten. Hier wird die absolute Menge des Kalis im Allgemeinen mit dem Alter zunehmen, zu gleicher Zeit nimmt die Zahl der Zellen zu, das Kali vertheilt sich also auf eine grössere Anzahl derselben. Die absolute Kalizunahme beweist uns also nichts. Ebensowenig hilft es uns die Kalimenge auf die Trockensubstanz zu beziehen, da die Trockensubstanz variabel ist, meist sogar zunehmen wird. So würde z. B. bei gleichbleibendem Kaligehalt eines Pflanzentheils durch die Vermehrung der Cellulose (ergo auch des Trockengewichts) an den relativen Zahlen eine Kaliabnahme zu constatiren sein, während in Wirklichkeit die Kalimenge gleich blieb. Es bleibt also nichts anderes übrig, als dass wir uns an die procentische Zusammensetzung der Asche halten. Hier weisen jüngere Pflanzen und Pflanzentheile fast durchwegs einen grösseren Kaligehalt auf als ältere Pflanzentheile. Je jünger ein Pflanzentheil ist, desto mehr überwiegen die jüngeren noch plasmareichen Zellen über die nicht mehr theilungsfähigen älteren Zellen. Nur dort, wo die Protoplasmamassen einen relativ grossen Procentsatz der Gesammttrockensubstanz ausmachen, nimmt das Kali in der Reihe der anorganischen Bestandtheile die erste Stelle ein.

Untersuchen wir Wurzeln oder Stengeltheile, so finden wir in der Asche nicht nur das Kali, welches gewissermaassen zur Constitution des Protoplasmas gehört, sondern auch die Kalisalze, welche aus dem Boden aufgenommen und erst zu den wachsenden Organen hingeleitet werden; hier sowie bei der Ansammlung von Salzen in Dauergeweben kann eine Steigerung des Kaligehaltes beobachtet werden, ohne dass die Protoplasmamenge vermehrt ist. Dieser Fehler fällt weg bei der Asche von Blättern und deshalb liefern die Aschenanalysen dieser Organe den besten Beweis dafür, dass analog der Verminderung des Protoplasmas eine Verminderung des Kaligehaltes stattfindet. Zu gleicher Zeit sehen wir bis zum Wachsthumsmaximum der Blätter auch die absolute Menge des Kaligehaltes steigen.

Es sei mir gestattet einige eclatante Beispiele aus der Litteratur in meine Arbeit aufzunehmen, welche sich auf den Aschen- und Proteingehalt von Blättern beziehen. Hinsichtlich der übrigen Angaben verweise ich auf die Litteratur, von welcher in der Anmerkung[2]) einiges citirt ist.

---

[1]) Der Phosphorgehalt ist für gewisse Proteinstoffe, z. B. die Nucleine, typisch, daneben finden sich in der Zelle auch Phosphate vor, demnach stammt der Phosphorgehalt der Asche aus verschiedenen Quellen.

[2]) Wenn nicht das Gegentheil bemerkt ist, handelt es sich im Folgenden um die procentische Zusammensetzung der Reinasche.

R. Arndt. Stengel, Blätter und Aehrchen von *Avena sativa*. Landw. Versuchsst.

Das erste Beispiel entnehme ich einer Untersuchung von L. Rissmüller[1]) über den Stoffwechsel in Buchenblättern während verschiedener Perioden; die hier als Proteinkörper bezeichneten Substanzen dienen uns zur Abschätzung der vorhandenen Protoplasmamengen.

1859. Bd. I. p. 31. Für die drei untersten Stengeltheile ist die übrige Aschensubstanz ausser Kali so gering, und die absolute Menge derselben nimmt in den älteren Perioden so bedeutend ab, dass der relative Mehrgehalt an Kali in älteren Stengeln nichts beweist, sonst normal.

Hugo Schulz. Zur Kenntniss der Cichorie. Landw. Versuchsstationen. 1867. Bd. IX. p. 203. In der Asche der Wurzel und der Blätter nimmt die procentische Kalimenge mit dem Alter ab. Die Phosphorsäuremenge steigt in den Wurzelsalzen, bleibt constant in den Blattsalzen.

J. Fittbogen. Untersuchung der *Seradella* in drei Perioden des Wachsthums. Centralblatt für Agriculturchemie. 1874. Bd. V. p. 283. Da nur die ganze Pflanze untersucht wurde, tritt ein Resultat nicht so klar hervor.

R. Heinrich. Preuss. Landw. Annalen. Bd. 57, p. 31—49. Wolffs Aschenanalysen 1870—80, p. 5. Weizenkörner vom 18. Juli bis 23. August. Kalimenge nimmt ab mit dem Alter. Phosphorsäure anfangs steigend, dann constant.

J. Fittbogen. Landw. Versuchsst. 1871, Bd. XIII, p. 81. Wolffs Aschenanalysen 1870—80, p. 12. An oberirdischen Theilen und den Wurzeln normale Abnahme von Kali und Phosphorsäure, ausser einer Steigerung von P_2O_5 bei der Bildung der Körner.

J. Rouf. Annales Agronomiques par Deherain. 1879, t. V, p. 283. Wolff l. c. p. 20. Zuckerrohr, ganze Pflanze. — Schwankende Werthe.

M. Siewert. Jahresb. für Agriculturchemie für 1870—72. Wolff l. c. p. 37. Untersucht sind von *Lupinus luteus* Stengel, Blätter, leere Schoten, Körner, überall Abnahme der Kalimenge mit vorgeschrittener Reife. Die Phosphormenge steigt bei den Körnern, sonst normal.

R. Pott. Sammlung physiologischer Abhandlungen von W. Preyer. Wolff l. c. p. 51. Beim Savoyerkohl ***Brassica oleracea var. bullata*** und beim Weisskohl ***Br. oleracea var. capitata alba*** zeigen die inneren Herzblätter mehr Kali und Phosphorsäure, als die äusseren älteren Blätter.

L. Dulk. Landw. Versuchsstat. 1875, Bd. XVIII, p. 192. Wolff l. c. p. 74. An Buchenblättern wurden die Angaben von L. Rissmüller ebendaselbst 1874 Bd. XVII, p. 17, bestätigt.

L. Dulk. Landw. Versuchsstat. 1875, Bd. XVIII. p. 177. Wolff l. c. p. 92. ***Pinus abies***, Rothtanne. 1—4jährige Saatschulpflanzen. Abnahme von Kali und Phosphorsäure zu constatiren, aber nicht bedeutend.

Ausser den hier angeführten Untersuchungen vergleiche man noch Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Bd. I, 1881, p. 329 und p. 258.

[1]) Landw. Versuchsstationen. 1874. Bd. XVII. pag. 17—31.

Fagus silvatica.

	1000 Stück frischer Buchenblätter gaben in gr:						100 Th. Asche gaben:		
	Trocken-substanz.	Protein-körper.	Asche.	K_2O	P_2O_5	CaO	K_2O	P_2O_5	CaO
Mai	53,22	13,05	2,48	0,77	0,53	0,36	**31,23**	**21,27**	14,96
Juni	106,76	20,21	5,55	1,20	0,46	1,38	21,74	8,43	24,25
Juli	**145,36**	**28,07**	10,82	**1,28**	0,56	3,02	11,85	5,24	27,82
August . . .	134,90	24,02	12,18	1,19	**0,66**	3,90	9,81	4,53	32,08
September. .	121,56	17,39	10,81	1,14	0,45	3,26	10,53	4,24	30,37
October . . .	105,67	12,68	**14,41**	0,87	0,36	3,57	7,67	3,22	31,29
November .	112,16	8,76	12,80	0,74	0,14	**4,21**	5,78	1,08	**32,95**

Englisches Raigras.

Nach R. Deetz in Hennebergs Journal für Landwirthschaft. 1873, p. 57 (Wolffs Aschenanalysen. 1870—80, p. 23.)

	1000 Stück Pflanzen enthielten (ohne Wurzeln) in gr:						100 Th. Asche enthielten:		
	Trocken-substanz.	Protein-körper.	Asche.	K_2O	P_2O_5	CaO	K_2O	P_2O_5	CaO
6. Mai . .	5,54	1,54	0,64	0,28	0,069	0,097	44,25	**10,79**	15,15
26. Mai . .	20,35	3,25	2,61	1,35	0,22	0,29	**51,95**	8,41	11,44
10. Juni . .	74,84	11,09	8,46	3,69	0,80	0,97	43,66	9,51	11,54
24. Juni . .	98,85	12,64	11,05	4,42	1,07	1,09	40,05	9,73	9,95
10. Juli . .	159,25	19,06	20,87	7,62	1,79	2,15	36,52	8,61	10,31
22. Juli . .	214,30	**26,72**	**27,18**	**8,91**	**2,33**	3,09	32,81	8,60	11,39
5. August.	238,70	18,62	26,97	7,32	2,32	**3,31**	27,14	8,61	12,29

Pinus silvestris [1]), verschieden alte Nadeln.

	In 100 Th. Asche			In 1000 Th. Trockensubstanz
	K_2O	P_2O_5	CaO	Reinasche:
1 jährig . . .	38,59	24,82	13,84	20,83
2 jährig . . .	25,14	13,75	26,27	15,58
3 jährig . . .	21,64	12,27	31,90	18,47
4 jährig . . .	17,97	9,22	36,54	20,82

[1]) L. Dulk in Biedermanns Centralbl. f. Agriculturchemie. Bd. X. 1876. p. 124.

Robinia pseudacazia und Prunus avium [1]).

	In 100 Th. Asche			In 100 Th. Trockensubstanz
	K_2O	P_2O_5	CaO	Asche:
Robinia 2. Mai . .	30,60	21,16	20,82	6,25
„ 3. Juli . .	19,20	8,69	48,64	7,75
„ 7. September	6,62	5,31	72,97	8,22
„ 13. October .	3,25	1,90	72,00	11,74
Prunus 28.—29. April	32,78	15,80	30,57	7,80
„ 3. Juli . .	17,80	8,20	38,06	7,30
„ 7. September	12,15	5,93	44,70	6,39
„ 2. October .	11,82	3,81	44,05	7,24

Aus den hier angegebenen Zahlen, sowie aus der pag. 27. u. 28 Anmerkung angegebenen Litteratur ersehen wir, dass das Maximum des Stickstoffgehaltes respective des Gehaltes an Proteinstoffen mit dem Maximum des Kaligehaltes (durch fetten Druck markirt) zusammenfällt, sobald wir die absoluten Werthe vergleichen. Mit der Abnahme des Proteingehaltes erfolgt auch eine Abnahme des Kaligehaltes. Es ist dabei aber nicht nothwendig, nicht einmal wahrscheinlich, dass sich ein constantes Verhältniss zwischen beiden verfolgen lässt, indem ja das Kali in der Pflanze noch anderweitige Verwendung haben kann, z. B. zur Bindung der organischen Säuren. Bei den auf 100 Theile Reinasche bezogenen Werthen finden wir die Kalimenge in den jüngsten Theilen relativ am grössten. Es hängt dies damit zusammen, dass je jünger ein Pflanzentheil ist, desto mehr die noch theilungsfähigen plasmareichen Zellen die ausgewachsenen Zellen überwiegen, in denen die Kalimenge abnimmt.

In vielen Fällen läuft der Ab- und Zunahme des Kalis eine Ab- und Zunahme der Phosphorsäuremenge parallel; doch ist dies nicht immer der Fall. Die Phosphorsäuremenge kann constant bleiben oder wie dies in den Samen der Fall ist, sie kann sogar zunehmen, während die Kalimenge abnimmt. Es scheint mir dies dadurch erklärt zu sein, dass wenigstens nicht die ganze Phosphorsäuremenge an das Kali gebunden ist. Ein Theil der Phosphorsäure in der Asche stammt von den sehr phosphorreichen Nucleinen her, die wie es scheint mit dem Alter der Zellen nicht in gleichem Maasse sich verändern wie die anderen Proteinkörper. Kossel[2]) gibt in

[1]) P. Fliche et L. Grandeau Recherches chimiques sur la Composition des feuilles. Annales de Chimie et de Physique. 1876. Serie 5. Tome VIII. p. 486. (Wolff, l. c. p. 84). — Dieselben Resultate erhielten Fliche und Grandeau bei der Untersuchung der Blätter von *Betula alba* und *Castanea vulgaris* Lam.

[2]) Zeitschrift f. Physiologische Chemie v. Hoppe-Seyler. 1882. Bd. 7, p. 7 ff.

seinen Untersuchungen „zur Chemie des Zellkerns" eine Methode an, um getrennt die Menge der Phosphate und die in organischen Verbindungen (Nuclein, Lecithin) enthaltene Phosphorsäure zu bestimmen. Das Nuclein kommt hauptsächlich vor in jenen Organen, welchen wir Ernährungs- und Neubildungsprocesse zuschreiben, aber die Nucleinphosphorsäue wird während des Hungers den Organen weniger leicht entzogen als die übrigen Phosphorsäureverbindungen. Diese von Kossel zunächst für thierische Gewebe festgestellte Thatsache würde uns erklären — die Analogie der chemischen Vorgänge in den Pflanzen vorausgesetzt — warum die Kali- und Phosphorsäuremenge sich theilweise verschieden verhalten.

Der Zweck dieser ganzen Auseinandersetzung ist erstens, die Bedeutung des Kalis und der Phosphorsäure für die Bildung des Protoplasmas in's richtige Licht zu setzen, zweitens der von Liebig ausgesprochenen, von Adolf Mayer[1]), Nobbe[2]) und Ebermayer[3]) acceptirten Ansicht entgegen zu treten, dass das Kali hauptsächlich zur Translocation der Kohlenhydrate diene. Indem man in den meisten Pflanzen diastatische Fermente nachweisen konnte, ist es mehr als wahrscheinlich geworden, dass die Kohlenhydrate als Glycose wandern. Bei diesem fermentativen Process spielt das Kali keine Rolle. Auf die Nichtigkeit der Annahme, dass das Kali zur Translocation der Kohlenhydrate diene, hat schon Pfeffer in seiner Pflanzenphysiologie, Bd. I, p. 259, hingewiesen. Aber auch der Vergleich der Aschenanalysen von Blättern, Stengel- und Wurzeltheilen, sowie von Samen zeigt uns aufs Deutlichste, dass ein derartiger Zusammenhang nicht besteht. Sonst müssten ja die Blätter, als die eigentlichen Productionsheerde der Stärke, wo täglich grosse Quantitäten von Stärke auswandern, die relativ kalireichsten Organe sein, dies ist aber nicht der Fall.

Hierfür einige Zahlen. Der Kaligehalt der Asche von Maispflanzen beträgt nach A. Leclerc[4]) für

Stengel	55,30 %.
Blätter	20,43 »
weibliche Blüthenstände	40,40 »
männliche Blüthenstände	32,67 »

Kaligehalt der gelben Lupinen im halbreifen Zustand nach O. Kellner[5]):

Stengel	41,62 %.
Blätter	16,70 »
leere Schoten . .	57,02 »
Körner	31,23 »

---

1) A. Mayer, Lehrbuch der Agriculturchemie. 1. Aufl. 1871. p. 255.

2) Nobbe, Schröder u. Erdmann. Die organische Leistung des Kalium in der Pflanze. Chemnitz 1871.

3) Ebermayer, Physiologische Chemie der Pflanzen. Bd. 1. 1882. p. 770.

4) Centralblatt für Agriculturchemie. 1878. p. 288.

5) Wolffs Aschenanalysen. 1870—80. p. 36.

Kaligehalt der Futter-Runkelrübe, *Beta vulgaris,* nach H. Habedank[1]):

Rüben in ungedüngtem Boden . . .	38,33	%.
Boden mit schwefelsaurem Kali gedüngt	44,32	„
Blätter, Boden ungedüngt	16,30	„
Boden mit schwefelsaurem Kali gedüngt	34,96	„

Dieselben Resultate lieferten die Aschenanalysen verschiedener Tabaksorten (Wolff l. c. p. 54), von Hopfen (Wolff l. c. p. 54) und anderer Pflanzen. Der Kaligehalt der Blätter bleibt immer hinter dem der Stengeltheile und mit wenigen Ausnahmen auch hinter dem der Wurzeln zurück. Es ist mir daher nicht verständlich, wieso Ebermayer[2]) die Blätter als die kalireichsten Organe der Pflanzen bezeichnen konnte.

§ 6. Durch welche Verbindung wird die alkalische Reaction des Protoplasmas hervorgerufen?

Die hier gestellte Frage exact zu beantworten, ist derzeit nicht möglich, wir können nur gewisse Stoffe und Verbindungen ausschliessen, die Möglichkeiten nach der einen oder anderen Seite hin abwägen, aber ein positives Resultat lässt sich noch nicht mit Sicherheit feststellen. Trotzdem, hoffe ich, werden die folgenden Betrachtungen zur Klärung der Frage beitragen.

Schon Liebig[3]) hat auf den Zusammenhang der phosphorsauren Alkalien und Erden mit den Eiweisskörpern hingewiesen. Er hält sich dabei hauptsächlich an die Zusammensetzung der Asche und den Nachweis von phosphorsauren Salzen in Pflanzenauszügen, ohne uns darüber aufzuklären, ob die phosphorsauren Salze auch in der lebenden Pflanze als Lösung vorkommen, oder ob directe Verbindungen mit den Eiweisskörpern vorliegen. Rochleder[4]) ist auf anderem Wege zu denselben Schlussfolgerungen gekommen. Er hat gezeigt, dass das aus Pflanzen dargestellte Legumin in Wasser unlöslich ist, während es in phosphorsaurem Natron (wohl $Na_2 HPO_4$) löslich ist, und ferner, dass Eiweissstoffe sich nur bilden, wenn der Pflanze phosphorsaure Alkalien zu Gebote stehen. Dabei nimmt Rochleder eine directe Verbindung der phosphorsauren Alkalien mit den Eiweisskörpern an, analog wie Kali oder Natron sich auch verbinden, ohne jedoch diese Ansicht näher zu begründen.

Im Allgemeinen wurden diese Ansichten acceptirt, wir finden jedoch auch eine andere Auffassung, der in neuerer Zeit von Reinke[5]) Ausdruck gegeben wurde. Er fand nämlich, dass das Protoplasma von *Aethalium septicum* in ein verschlossenes Glasgefäss gebracht, die darüber stehende Atmosphäre mit Ammoniak oder Ammoniumcarbonat erfüllt, wodurch nach

1) Wolffs Aschenanalysen l. c. p. 43.
2) l. c. p. 771.
3) Die Chemie in ihrer Anwendung auf Agricultur u. Physiologie. Bd. I. p. 201.
4) Phytochemie. 1854. p. 337.
5) Studien über das Protoplasma. 1881. I. p. 8.

seiner Ansicht die alkalische Reaction des Protoplasmas hinlänglich erklärt wird. Ich muss gestehen, dass ich diese eine Beobachtung nicht für ausreichend halte, findet doch auch beim thierischen Organismus Ausscheidung von Ammoniak statt, ohne dass man deshalb annehmen kann, das Protoplasma derselben sei durch Ammoniak alkalisch gemacht. Da ich Schleimpilze nicht selbst untersucht habe, verzichte ich auf eine weitere Auseinandersetzung, möchte aber constatiren, dass bei den von mir untersuchten höheren Pflanzen weder Ammoniak noch eine Ammoniakverbindung die alkalische Reaction des Protoplasmas bedingen.

Es ist bekannt, dass Ammoniak überhaupt von lebendem Protoplasma nicht festgehalten wird, sondern ungehindert in den Zellsaft hineindiffundirt und ebenso leicht wieder durch reines Wasser ausgewaschen werden kann, ohne dass das Leben der Zelle leidet. Man erkennt dies mit Leichtigkeit an Zellen mit rothem Zellsaft, der kurze Zeit nach dem Einlegen in sehr verdünntes Ammoniak sich blau färbt; bringt man die Zellen wieder in reines Wasser, so verschwindet das Ammoniak aus der Zelle, der Zellsaft wird wieder roth. Das Ammoniak diffundirt immer in die ammoniakärmere Flüssigkeit, gleichgültig, ob dieselbe durch Zusatz von Zucker osmotisch stärker wirksam gemacht wird als der Zellsaft, oder ob die Aussenflüssigkeit osmotisch weniger wirksam ist. Ein Körper, der in so geringem Grade vom Protoplasma angezogen wird, kann nicht die Ursache der alkalischen Reaction sein, denn auch nach langem Liegen der Zellen in Wasser behält das Protoplasma seine Reaction. Gegen die Anwesenheit ammoniakalischer Salze spricht die Thatsache, dass junge plasmareiche Pflanzentheile' mit Kalkwasser gekocht, niemals Ammoniak ausscheiden. Wenn der aus älteren Pflanzentheilen ausgepresste Saft, wie z. B. bei der Zuckerrübe, mit Kalkwasser gekocht, viel Ammoniak abgibt, so stammt dies nicht von Ammoniaksalzen, sondern von der Zersetzung der im Zellsaft gelösten Amide und Amidosäuren, wie z. B. von Asparagin und Asparaginsäure. Zum weiteren Beweise könnte man auch noch die Untersuchung von E. Zacharias[1]) „Ueber den Inhalt der Siebröhren von *Cucurbita Pepo*“ heranziehen, da ja der Siebröhreninhalt sich im Grossen und Ganzen analog verhält wie das Protoplasma. Nach Zacharias bleiben die klaren Flecken, welche der Gefässbündelinhalt auf Reagenzpapier zurücklässt, auch nach starkem Austrocknen und Erwärmen desselben, erhalten. Zweitens setzt man auf einen frischen Schnitt einen Tropfen Molybdänphosphorsäure, so entsteht auf jedem Gefässbündel eine kleine weisse Kruste; wäre Ammoniak zugegen, so würde diese gelb sein. Jenes Reagens auf eine dünne Schicht Kali gesetzt, welche man auf Glas ausgebreitet hat, gibt eine analoge weisse Haut.

Nach alledem ist es also ziemlich sicher, dass die Alkalinität des Proto-

---

[1]) Botanische Zeitung. 1884. p. 65.

plasmas nicht durch Ammoniak oder Ammoniakverbindungen hervorgerufen wird.

Auf den Zusammenhang des Protoplasmas mit dem Alkali- und Phosphorsäuregehalt der Pflanzenasche habe ich schon im § 5 hingewiesen, die dort betonten Thatsachen führen uns entschieden darauf hin, in diesen beiden Stoffen die Ursache der Protoplasmareaction zu suchen, wie dies ja auch von früheren Autoren geschehen ist. Auf Natronsalze braucht man keine Rücksicht zu nehmen, sie sind ja für die Pflanze nicht nothwendig, sie können das Kali vielleicht im Zellsaft bei der Bindung organischer Säuren vertreten, im Protoplasma jedenfalls nicht.

Kalksalze werden bei der alkalischen Reaction des Plasmas nicht mitwirken, sie müssten denn direct mit den Eiweisskörpern verbunden sein. In diesem Falle ist es allerdings möglich, dass eine gelöste Kalkverbindung vorhanden wäre, trotz der alkalischen Reaction, sonst sind ja die hier zunächst in Betracht zu ziehenden Kalksalze, wie phosphorsaurer Kalk, kohlensaurer Kalk, nicht löslich. Wenn ich demnach die Gegenwart einer Kalkproteinverbindung nicht ausschliessen will, so glaube ich doch nicht, dass dieselbe die alkalische Reaction bedinge, indem ja der Kalk in den plasmareichsten jungen Theilen nur eine untergeordnete Rolle spielt, seine Menge erst dann bedeutend zunimmt, wenn die Plasmamenge sich verringert.

Mit Rücksicht darauf, dass Kali und eventuell Phosphorsäure die Plasmareaction verursachen, könnte dies in verschiedener Weise geschehen. Erstens, im Plasma befände sich der die Alkalinität desselben bedingende Körper in Lösung oder, richtiger gesagt, das gequollene Protoplasma wird von der alkalischen Lösung durchtränkt. Dabei könnte man an freies Kali oder Di- oder Trikaliumphosphat oder an irgend ein anderes alkalisch reagirendes Kalisalz (Ka_2CO_3, $KaHCO_3$) denken. Zweitens, der betreffende Körper ist an die Proteinkörper des Plasmas gebunden. Auch hier kann entweder eine einfache Kaliverbindung vorliegen, wobei die Phosphorsäure auf bestimmte Proteinkörper, z. B. die Nucleine, beschränkt bliebe, oder es kann ein alkalisches Phosphat in die Proteinverbindung eintreten.

Wichtig für die Erörterung dieser Frage ist die Thatsache, dass das Protoplasma mit Kohlensäure gesättigt sein muss, denn bei der Athmung wird aus der Zelle Kohlensäure ausgeschieden, was nur möglich ist, wenn die im Protoplasma befindliche Flüssigkeit mit diesem Gase gesättigt ist.

Eine derartige Sättigung mit CO_2 schliesst schon von vornherein freies Alkali aus, denn dasselbe würde alsbald in kohlensaures Kali verwandelt sein. Die Abwesenheit von freiem Kali ist aber noch durch andere Versuche zu constatiren. Zunächst durch die Färbung mit Tropaeolin OOO No. 1 [1]), einem Benzolfarbstoff (Kaliumsalz der Phenylamidoazobenzolsulfonsäure), der durch freies Alkali sich carminroth färbt, während er bei neutraler Reaction orangefarben ist. Bei Zusatz von Na_2HPO_4, welches

[1]) Bezogen aus der Chem. Fabrik von Schuchardt in Görlitz.

Lakmustinctur blau färbt, verändert er seine Orangefarbe nur wenig. In ähnlicher Weise reagiren die im Handel vorkommenden Farbstoffe Tropaeolin 000 No. 2 und Tropaeolin R. Die beiden letzteren sind im neutralen Zustande citronengelb, welche Farbe sich durch K_2CO_3 nur wenig, durch Na_2HPO_4 und K_2HPO_4 gar nicht verändert, während Zusatz von sehr verdünnter Kalilauge oder von Ammoniak sie rothorange färbt.

Durch diese Farbstoffe liess sich mit Sicherheit nachweisen, dass kein freies Alkali im Protoplasma vorhanden ist, weder beim Absterben der Zellen in der Farbstofflösung, noch beim Tödten durch Druck, Alcohol oder durch den electrischen Strom. In derselben Weise wie freies Kali wirkt das neutrale phosphorsaure Kalium K_3PO_4 (reagirt stark alkalisch auf Lakmus) auf die Farbstoffe ein, es fehlt demnach ebenfalls im Protoplasma.

Gegen das Vorhandensein von kohlensaurem Kali oder doppeltkohlensaurem Kali spricht die Einwirkung von Salzsäure auf das Protoplasma. Ich prüfte die verschiedenartigsten Zellen, konnte aber niemals, gleichviel ob ich sehr verdünnte oder concentrirte Salzsäure einwirken liess, Kohlensäureentwicklung aus dem Plasma beobachten. Bei Anwesenheit von kohlensaurem Kalk tritt dieselbe natürlich ein.

Da die neutral reagirenden Kalisalze eo ipso ausgeschlossen sind, bleibt nur noch Dikaliumphosphat zu berücksichtigen. Die Tropaeolin-Reaction gibt uns keine Entscheidung, denn unter dem Mikroskope ist es unmöglich, solch geringe Farbendifferenzen zu erkennen, wie sie durch das K_2HPO_4 hervorgerufen werden. Schon bei intensiver Tingirung des Protoplasmas ist die Farbe eine andere als bei schwacher Färbung, eine Entscheidung daher, ob das Plasma orange oder rothorange gefärbt ist, bleibt unmöglich.

Auf den Kohlfarbstoff dagegen wirkt K_2HPO_4 ganz in derselben Weise ein wie das Protoplasma, es färbt ihn in geringerer Menge blau, bei stärkerem Zusatz blaugrün. Diese Färbung würde also für die Anwesenheit dieses Salzes sprechen, während das Monokaliumphosphat (KH_2PO_4) den Kohlfarbstoff röthet, also im Plasma für gewöhnlich nicht vorkommen kann. Wie verhält sich K_2HPO_4 aber gegen Sättigung mit Kohlensäure? Dieses Salz absorbirt CO_2 sehr stark und wird durch Ueberschuss von CO_2 zersetzt. Es bildet sich das doppeltsaure phosphorsaure Kali und kohlensaures Kali nach der Formel:

$$K_2HPO_4 + CO_2 + H_2O = KH_2PO_4 + KHCO_3$$

Die saure Reaktion des Monokaliumphosphats wird durch die schwach alkalische des Kalihydrocarbonats compensirt werden, ein derartiges Gemenge könnte demnach keine so stark alkalische Reaction hervorrufen, wie wir dies am pflanzlichen Protoplasma beobachten konnten.

Die hier angegebene Umsetzung würde nur dann vollständige Gültigkeit haben, wenn die Phosphate im Protoplasma in Lösung vorhanden wären. Da aber diese Umsetzungen wegen der relativ starken Alkalinität des Protoplasmas sehr unwahrscheinlich sind, scheint es mir den Verhältnissen besser zu entsprechen, wenn wir eine chemische Bindung zwischen Alkali und Pro-

teinkörpern annehmen. Eine derartige Verbindung muss durch CO_2 nicht zersetzt werden, wie dies bei den in Lösung befindlichen Phosphaten stattfindet. Diese Verbindung kann aber auf Indicatoren sehr wohl alkalisch wirken.

Bevor ich zur Frage übergehe, welcher Körper mit den Proteinstoffen verbunden ist, möchte ich für die Bindung überhaupt noch einige Thatsachen geltend machen.

Es ist bekannt, dass sich Eiweissstoffe — Albumine und Globuline — leicht mit Alkalien zu Alkalialbuminaten verbinden, die unter gewissen Umständen eine ähnliche gallertige Beschaffenheit haben können wie das Protoplasma. Ferner sind Eiweissverbindungen mit Kalk und Magnesia dargestellt. Die Möglichkeit einer analogen Bindung im Protoplasma liegt also vor. Ferner ist zu berücksichtigen, in welch' hohem Grade die Alkalien vom Protoplasma festgehalten werden. Schon die Constanz der sauren Zellsaftreaction in lebenden Pflanzen beweist uns, dass die Alkalien aus dem Protoplasma nur sehr schwer in den Zellsaft diffundiren. Ein gelöstes Salz würde aber viel leichter diffusibel sein, als das an Proteinkörper gebundene Alkali. Selbst in den mit Wasser ausgekochten Pflanzentheilen bleibt noch eine ziemliche Menge von Kali zurück, wofür ich folgende Zahlen anführen kann, die ich einer Untersuchung von E. Spiess[1]) entnehme.

Ausgekochter Hopfen enthielt in 100 Theilen Reinasche 15,02% K_2O, während die unausgekochte Pflanze 24,46% enthält. (In den Blättern[2]) 19,16%, im Stengel 34,54%, in den Blüthenständen 38,66%.) Ferner kann man dünne Schnitte aus Pflanzentheilen tagelang in Wasser liegen lassen und trotzdem bleibt die alkalische Reaction erhalten.

Absolut beweisend sind diese Thatsachen nicht, denn es kann sich hier vielleicht auch um eine einfache moleculare Zwischenlagerung der Alkalien handeln ohne chemische Bindung. Die Beobachtung, dass bei in Zuckerlösung liegenden Schnitten vor dem vollständigen Absterben Alkali in den Zellsaft diffundirt, kann verschieden erklärt werden, entweder ist die Verbindung des Alkali mit dem Proteinkörper aufgehoben, das erstere diffusionsfähig gemacht oder das dem Tode entgegengehende Plasma besitzt eine geringere Anziehungskraft für die Alkalien.

Bemerkenswerth wäre noch der Unterschied in der Stärke der Färbung, je nachdem man die Zellen durch Alkohol oder durch einen stärkeren Inductionsstrom tödtet. Bei den mit Alkohol fixirten Präparaten ist die Färbung immer geringer, niemals konnte ich beobachten, dass sie bis zum blaugrün anstieg, ebenso färben sich Zellen, die durch schwache Inductionsströme getödtet sind, weniger stark alkalisch, als wenn man stärkere Ströme längere Zeit einwirken lässt. An einzelnen Pflanzen ist dies besonders gut zu beobachten, z. B. bei den Blüthen von *Iris pumila*, die sich bei schwachen

[1]) Centralblatt f. Agriculturchemie. 1873. Bd. III. p. 375. Wolffs Aschenanalysen. 1870—80. p. 54.

[2]) Nach G. Hirzel, Centralblatt f. Agric. 1872. Bd. I. p. 231.

Strömen oder bei Alkoholwirkung violett, bei stärkeren Strömen blau färben. Bei alten Zellen des Blattstiels von *Rumex hamatus* kann man Aehnliches beobachten. Am leichtesten wird dies erklärt durch die Annahme, dass der electrische Strom die Protein-Kaliverbindung in bestimmten Fällen trennen kann und dass dies nun frei gewordene Kali oder Kalisalz stärker auf den Farbstoff einwirkt, als wenn es noch an einen Eiweisskörper gebunden ist.

Schliesslich möchte ich noch auf eine allerdings vereinzelt gebliebene Beobachtung aufmerksam machen, die sich nur erklären lässt, wenn man zwischen Alkali und Proteinkörper eine Bindung annimmt. Tödtet man blaue Hyacinthenblüthen mit Essigsäure, so färben sich die Kerne nicht etwa roth, sondern doch noch blau, auch wenn man eine 50%tige oder noch concentrirtere Essigsäure angewendet hat. Das Cytoplasma quillt und färbt sich deshalb gar nicht. Wäre das Kali in diesem Falle nicht mit Proteinkörpern verbunden, so müsste es neutralisirt werden, was jedoch nicht geschieht. Auch frei in der Essigsäure liegende Kerne zeigen Blaufärbung, wobei die Möglichkeit ausgeschlossen war, dass der in den Zellen vorhandene Schleim die Kerne vor einer Berührung mit der Essigsäure geschützt hätte.

Wenn die einzelnen Thatsachen für sich nicht vollständig beweisend sind, so muss man doch zugestehen, dass sie in ihrer Gesammtheit unsere Annahme wahrscheinlich machen, das Alkali sei in der lebenden Pflanze an die Proteinkörper gebunden.

Die aus Pflanzen bisher dargestellten Proteinkörper enthalten nur theilweise Phosphor. Es wäre daher ganz gut denkbar, dass diejenigen, welche keinen Phosphor enthalten, in der Pflanze als einfache Kaliverbindungen vorkämen, während die übrigen Kali und Phosphor resp. Phosphorsäure zugleich in ihrem Moleküle aufweisen. Für derartige Kaliverbindungen sprechen auch die Versuche mit Tropaeolin; da Tropaeolin sich nach den Untersuchungen von Danilewski durch das an bestimmte Eiweisskörper gebundene Kali nicht verändert, wird es leicht begreiflich, wieso wir bei Tropaeolinzusatz keine der Alkalinität des Protoplasmas entsprechende Farbenänderung beobachten konnten.

Kapitel II.

Chlorophyllkörper.

§ 7. Ansichten über die Struktur der Chlorophyllkörper. Eigene Auffassung.

In den letzten Jahren sind eine Reihe von Arbeiten erschienen, welche unsere Kenntniss über die Chlorophyll- und Farbstoff-Körper in mannigfacher Weise bereicherten. Was die morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Gesichtspunkte anbelangt, so ist man wohl bis zu einem gewissen Abschlusse gelangt, während über die feinere Struktur und die chemische Beschaffenheit der Chromatophoren die Akten noch keineswegs geschlossen sind.

Es liegt nicht in meiner Absicht, hier eine genaue historische Uebersicht und kritische Besprechung der ziemlich umfangreichen Litteratur zu geben. Da ich jedoch nach meinen in der Einleitung ausgesprochenen Ansichten die chemische Untersuchung von der morphologischen nicht trennen konnte, seien hier wenigstens die wichtigsten Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen über die Struktur angeführt.

Im Grunde genommen stehen sich eigentlich nur zwei verschiedene Ansichten gegenüber, die allerdings durch die einzelnen Autoren mannigfaltige Modificationen erlitten haben. Erstens die Anschauungen von Schmitz und Frommann. Die Chlorophyllkörper zeigen in der unverletzten Zelle eine mehr oder weniger deutliche feine Punktirung, welche, wie sich Schmitz[1]) ausdrückt, „allgemein auf einer sehr feinen Netzstruktur mit zahlreichen mehr oder minder engen Maschenräumen beruht, analog wie bei dem Protoplasma selbst[2]), das zuweilen deutlich eine derartige Netzstruktur besitzt, vielfach jedoch nur eine Andeutung dieser Struktur in Form einer sehr feinen Punktirung wahrnehmen lässt.“ Diese Auffassung bezieht Schmitz nicht nur auf alle Chromatophoren der Algen, sondern auch auf

---

[1]) Beiträge zur Kenntniss der Chromatophoren in Pringsheim's Jahrbüchern f. wiss. Botanik. 1884. Bd. XV, p. 173.

[2]) Cytoplasma in unserem Sinne.

die Chlorophyllkörper der Archegoniaten und Phanerogamen, ohne dass er jedoch die Frage für definitiv erledigt hält.

In ähnlicher Weise äussert sich Frommann[1]). Nach ihm zeigen die Chlorophyllkörper „eine Differenzirung ihrer Substanz theils zu einzelnen gefärbten Körnchen und kurzen feinen, nur theilweise untereinander und mit den letzteren zusammenhängenden, ebenfalls gefärbten Fäden, theils zu gefärbten geschlossenen Netzen. Die Maschen sind theils rund oder oval, theils rechteckig oder quadratisch, bilden ein zierliches Gitterwerk von straminartigem Aussehen, und wie innerhalb der Protoplasmanetze finden sich auch hier in Netzen mit gleichmässig engen Maschen einzelne Maschen eingestreut, die sich durch ihre grössere Weite und durch die derbere Beschaffenheit und den stärkeren Glanz ihrer Septa vor den übrigen auszeichnen. Im Inneren mancher Chlorophyllkörper finden sich vereinzelt oder zu mehreren, theils derbere Knotenpunkte, theils derbere stärker glänzende, die ersteren zum Theil oder ganz durchsetzende, geradlinig oder etwas bogenförmig verlaufende, glatte oder gekörnte Fäden, die bald nachweislich mit anderen feineren benachbarten sich am Verschluss der unmittelbar angrenzenden Maschen betheiligen, bald nicht. Wo mehrere dieser dickeren längeren Fäden vorhanden sind, verlaufen dieselben ziemlich dicht nebeneinander von einem Pol zum anderen, oder sie sind unregelmässig vertheilt und nach verschiedenen Richtungen hin orientirt, oder sie strahlen radienartig von den centralen Parthien nach der Peripherie aus und in allen Fällen können einzelne derselben noch über die letztere hinausgreifen und sich in die anstossenden ungefärbten Netze einsenken."

Diese unmittelbare Verbindung der Chlorophyllkörperfibrillen mit den Cytoplasmafibrillen ist eine specielle Annahme Frommanns, welche durch directe Beobachtung wohl schwer zu rechtfertigen sein dürfte, abgesehen davon, dass nach unserer Ansicht das Cytoplasma überhaupt keinen fibrillär-gerüstförmigen Aufbau zeigt. Die sonst so vortrefflichen Arbeiten von Schmitz leiden entschieden unter der geringen Anzahl von Abbildungen, wodurch es uns nicht möglich ist eine klare Vorstellung darüber zu gewinnen, wie Schmitz das Fibrillennetz sich denkt. Die Zeichnungen von Frommann[2]) dagegen sind viel zu schematisch und entsprechen überdies nicht seiner, wie wir aus dem oben gegebenen Citat ersehen, etwas confusen Beschreibung.

Sowohl Frommann als Schmitz nehmen an, die netzfibrilläre Substanz sei grün gefärbt d. h. die farblose Grundsubstanz ist von der Chlorophylllösung durchtränkt. Die dichteren Knotenpunkte des Netzes erscheinen bei der Beobachtung als dunklere Punkte.

Die Begrenzung der Chlorophyllkörper geschieht nicht durch eine beson-

---

1) C. Frommann, Beobachtungen über Struktur und Bewegungserscheinungen des Protoplasmas der Pflanzenzellen. 1880. p. 6.

2) l. c. Tafel I.

dere Membran, sondern mehr durch Aneinanderlegen der äussersten Maschenreihe. Wenn auch ein morphologisch differenzirtes hyalines Plasmahäutchen fehlt, so bezeichnet Schmitz[1]) doch die Gegenwart einer der Plasmamembran der Zellsubstanz analogen äussersten Schicht als nicht unwahrscheinlich, wenn auch bisher als nicht sicher nachgewiesen.

Eine wesentlich andere Auffassung von der Struktur der Chlorophyllkörper hat Pringsheim ausgesprochen, seinen Ansichten lassen sich die von Tschirch, Arthur Meyer und A. F. W. Schimper leicht anschliessen. Nach Pringsheim[2]) bildet die feste Grundsubstanz der Chlorophyllkörper, die deren Form bestimmt, ein schwammförmiges Gerüste, welches im normalen Zustande von dem ölartig flüssigen Träger des Farbstoffes und dem Hypochlorin durchtränkt ist. Das schwammförmige Gerüste macht nur den peripherischen Theil des Gebildes aus, so dass die Chlorophyllkörper eigentlich Hohlkörper mit netzartig durchbrochener Hülle darstellen, in deren Innerem die secundären Bildungsprodukte (Stärkekörner) als fremdartige Einschlüsse abgelagert werden. Wir finden hier also den Farbstoff nicht an die Grundsubstanz gebunden, sondern an einen ölartigen Träger (*Lipochlor* Pringsheim's), welcher die Hohlräume des Gerüstes ausfüllt. Ob das Gerüste im lebenden Chlorophyllkörper selbst gefärbt ist, wird nicht gesagt. Im lebenden Zustande ist von dieser Struktur noch nichts zu sehen, sondern erst nach Behandlung mit Salzsäure, Siedehitze oder concentrirtem Sonnenlicht.

Bei Tschirch[3]), der ohne Weiteres die Ansichten Pringsheims acceptirt, spielt die Phantasie eine grössere Rolle als die Beobachtung. Eine derartige Oberflächenauskleidung des Schwammgerüstes mit dem Chlorophyllfarbstoff hat Tschirch unmöglich sehen können, auf das von ihm behauptete Bestehen einer Chlorophyllkörpermembran werde ich noch zurückkommen.

Nach Arthur Meyer[4]) bestehen die Chlorophyllkörper aus einer mehr oder weniger farblosen Grundsubstanz und aus dunkelgrünen Körnern oder Kugeln, welche derselben eingelagert sind und die Meyer als „Grana“ bezeichnet. Ob jedes einzelne Granum ausser dem Chlorophyll noch andere Körper enthält, lässt Meyer dahingestellt sein. Der Unterschied zwischen den Ansichten von Pringsheim und Meyer besteht darin, dass Meyer die Chlorophyllkörper nicht für Hohlkugeln, sondern für compakte Körper hält, zweitens haben die Grana Meyers eine regelmässige kuglige Form, während bei Pringsheim der grüne Farbstoff die unregelmässigen Maschen des schwammförmigen Gerüstes erfüllt, drittens verwirft Meyer die Ansichten über Hypochlorin, Lipochlor, auf die ich hier nicht näher einzugehen gedenke, da ich über die Natur des Chlorophyllfarbstoffes keine Untersuchungen ange-

[1]) Beiträge zur Kenntniss der Chromatophoren. p. 166.

[2]) Ueber Lichtwirkung und Chlorophyllfunction in der Pflanze. Jahrbücher für wiss. Botanik. Bd. XII. p. 313.

[3]) Untersuchungen über das Chlorophyll. 1884.

[4]) Arthur Meyer, Das Chlorophyllkorn. 1883. p. 23.

stellt habe. Das Vorhandensein einer gesonderten sichtbaren Chlorophyllkörpermembran wird von Meyer (l. c. p. 13) ebenso wie von Schmitz bestritten.

Schimper schliesst sich im Grossen und Ganzen den Anschauungen A. Meyers an. Nach ihm bestehen die Chlorophyllkörper[1]) aus einem farblosen Stroma (der Grundsubstanz) mit zahlreichen, von einer grünen, zähflüssigen Substanz erfüllten Vacuolen. Diese Vacuolen sind identisch mit den Grana Meyers, welch letzteren Ausdruck Schimper acceptirt.

Fragen wir uns nun, wie derartige Differenzen in den Anschauungen zu Tage treten konnten, so liegt die Ursache davon in der verschiedenen Beobachtungsmethode der einzelnen Forscher. Indem A. Meyer und Schimper sich an das unmittelbare Bild der Chlorophyllkörper in der lebenden Zelle halten, schützen sie sich vor zu weit gehenden Schlüssen, vermögen aber nicht tiefer in die Struktureigenthümlichkeiten einzudringen. Uebrigens sieht man bei Weitem nicht an allen Chlorophyllkörnern die Granastruktur und für diese Fälle sind Meyer und Schimper auf Analogieschlüsse angewiesen, oder sie mussten in Consequenz ihrer Anschauung, dass nur die direkt sichtbare Struktur Gültigkeit hat, das Vorhandensein der Grana in diesen Fällen überhaupt leugnen. Im Gegensatz hierzu ist die Auffassung von Schmitz und Frommann vorzüglich auf fixirtes, d. h. durch Fällungsmittel verändertes Material begründet. Im Kap. IV. habe ich darauf hingewiesen, in wie weit derartige Bilder sichere Auskunft über die wahre Struktur liefern. Jedenfalls ist eine Bestätigung durch andere Beobachtungen nothwendig.

Dass die Bilder, welche Pringsheim uns bietet, Kunstproducte sind, werde ich noch im Weitern beweisen.

Was schliesslich meine eigenen Beobachtungen anbelangt, so bin ich zu Resultaten gekommen, welche von den bisherigen Ansichten wesentlich abweichen. Ich beschränkte mich nicht auf eine einzige Methode, sondern suchte durch den Vergleich der mannigfaltigen Bilder, wie sie sich uns bei der Behandlung mit verschiedenen Reagentien ergeben, die wahre Struktur der Chlorophyllkörper zu ergründen; namentlich legte ich Gewicht auf die quellend oder partiell lösend wirkenden Substanzen. Ich bin zur Ueberzeugung gelangt, dass den Chlorophyllkörpern eine Fibrillenstruktur zukommt, die jedoch nicht identisch ist mit der von Schmitz und Frommann beschriebenen. Die Fibrillen bilden keineswegs ein anastomosirendes Netz, an welchem die Knotenpunkte als intensiver gefärbte Körnchen erscheinen, die Fibrillen liegen vielmehr nebeneinander, sind wenig verschlungen, füllen die ganze Masse des Chlorophyllkörpers aus, liegen jedoch im unverletzten Chlorophyllkörper so dicht

[1]) A. F. W. Schimper, Untersuchungen über die Chlorophyllkörper. Jahrbücher f. wiss. Botanik. Bd. XVI. 1885. p. 152.

nebeneinander, dass man ihre Grenzen nicht wahrzunehmen im Stande ist. Sie sind gewissermassen verkittet und mit einander verbunden durch eine Zwischensubstanz, welche sich durch ihre leichtere Quellbarkeit, die in Löslichkeit übergehen kann, auszeichnet. Die Trennung der Fibrillen wird dadurch bewerkstelligt, dass man die Chlorophyllkörper einer geringen Quellung aussetzt, oder indem man durch passende Reagentien eine geringe Schrumpfung der Fibrillen hervorruft und so die Unterscheidung der Strukturelemente möglich macht.

Die Fibrillen sind nun nicht gleichmässig gefärbt, sondern enthalten grüngefärbte Vacuolen resp. Kugeln, welche mit den Grana von A. Meyer identisch sind. Die übrige Fibrillensubstanz ist ebenfalls grüngefärbt, jedoch in geringerem Grade. Die Zwischensubstanz scheint keinen Farbstoff zu enthalten.

Fibrillen und Grundsubstanz sind chemisch differente Proteinkörper, für welche ich die Namen **Chloroplastin** und **Metaxin** vorgeschlagen habe. Eine chemisch und morphologisch differente Membran ist nicht vorhanden, es ist jedoch wahrscheinlich, dass ein sog. Plasmahäutchen die Chlorophyllkörper begrenzt.

Das Resultat dieser Zusammensetzung ist, dass in unverletzten Zellen die Chlorophyllkörper oft das Aussehen haben, als ob im ganzen Gebilde die grünen Kugeln (die Grana) gleichmässig vertheilt in einer homogenen Grundsubstanz lägen. Die Grana werden dann besonders gut sichtbar sein, wenn sie ziemlich gross sind und die Fibrillen relativ weniger Farbstoff enthalten. Sind aber umgekehrt die Fibrillen stark gefärbt, die Grana sehr klein und die Zwischenräume zwischen denselben ebenfalls von geringem Umfang, so werden die Chlorophyllkörper aussehen, als ob sie vollständig homogen wären. Es ist nämlich absolut nicht richtig, dass man die Grana immer an den Chlorophyllkörpern der unverletzten Zelle sehen kann, wie man dies nach den Angaben von Meyer und Schimper vermuthen möchte. In den weitaus meisten Fällen sind die Grana am Chlorophyllkörper der lebenden Zelle nicht sichtbar, sie können aber durch geringe Quellung in Zuckerlösungen passender Concentration sichtbar gemacht werden. Namentlich nimmt die Deutlichkeit der Grana mit dem Alter ab und zwar hauptsächlich an Chlorophyllkörpern, deren Funktion herabgesetzt wird, wie z. B. an Stengeln, tieferliegenden Geweben, an Blüthen, die nur in der Jugend grün gefärbt sind; ich glaube sogar, dass theilweise die Grana ganz verschwinden und einer gleichmässigeren Färbung der Fibrillen Platz machen können. Die Fibrillen dagegen sind auch an den in ihrer Masse sehr reducirten Chlorophyllkörpern noch nachzuweisen. Dort, wo Auflösung derselben stattfindet, wird ihre Substanz von dem Cytoplasma aufgenommen, was nicht

auffallend ist, da ja das Cytoplastin sich von dem Chloroplastin nur sehr wenig unterscheidet. An jungen grünen Hyacinthenblüthen z. B. kann man, wenn sie die grüne Farbe verlieren, noch einige Zeit die Reste der Chloroplastinsubstanz nachweisen, dann verschwindet dieselbe jedoch ganz im Cytoplasma.

Die im Folgenden angegebenen Untersuchungen werden den Beweis für die Richtigkeit meiner Auffassung liefern. Was die chemischen Eigenschaften der Chlorophyllkörper anbelangt, so waren meine Bestrebungen nur auf die Untersuchung der plasmatischen Grundlage gerichtet, da eine Erweiterung unserer Kenntnisse über den Chlorophyllfarbstoff nur auf macrochemischen Wege möglich ist. Dagegen habe ich die Art der Farbstoffvertheilung näher berücksichtigt.

In Bezug auf die chemische Beschaffenheit der protoplasmatischen Grundlage der Chlorophyllkörper lagen schon einige Angaben von E. Zacharias[1]) vor, aus welchen hervorgeht, dass dieselben zum grössten Theil aus einer in Pepsin-Salzsäure unverdaubaren Substanz bestehen; da ich im Folgenden diese Angaben näher berücksichtigt habe, seien dieselben hier nur kurz erwähnt.

Meine Beobachtungen beziehen sich fast ausschliesslich auf Phanerogamen, von Archegoniaten wurden nur wenige berücksichtigt, eine Verallgemeinerung der Resultate in Bezug auf Algen und Archegoniaten bedürfte daher erst weiterer Untersuchungen.

Da ich vielfach Reagentien anwendete, welche die Zellen nicht tödten, war es nothwendig, damit dieselben unmittelbar auf die Chlorophyllkörper wirken konnten, die Beobachtungen an verletzten Zellen zu machen. Wo sich Unterschiede zwischen verletzten und unverletzten Chlorophyllkörpern in angeschnittenen Zellen geltend machten, fand dies besondere Erwähnung.

§ 8. Einwirkung von Wasser auf die Chlorophyllkörper.

Betrachten wir das Verhalten der Chlorophyllkörper in angeschnittenen oder durch Druck verletzten und daher für weiteren Wasserzutritt zugänglich gemachten Zellen, so finden wir, dass durch dieses fast überall ein mehr oder weniger starkes Aufquellen hervorgerufen wird. Ausnahmen hiervon sind sehr selten; ich konnte sie nur bei stärkerem Gerbstoffgehalte der Zellen finden, es unterblieb die Quellung dann ganz, vollständige Lösung habe ich dagegen niemals beobachtet.

Betrachtet man nur die Endstadien der Quellung, wie sie uns an verschiedenen Pflanzen entgegentreten, so könnte man zwei differente Formen der Quellung annehmen, wie dies auch von A. Meyer in seiner Monographie über das Chlorophyllkorn (p. 24) geschehen ist. In dem einen Falle wurden die Chlorophyllkörper in eine gleichmässig trübe Masse verwandelt,

---

[1]) E. Zacharias, Ueber Eiweiss, Nuclein und Plastin. Bot. Zeitung. 1883. p. 213.

im anderen Falle bilden sich Vacuolen, wodurch die Chlorophyllkörper schliesslich zu einem Blasenhaufen werden können. Bei näherer Betrachtung stellt sich jedoch heraus, dass dies nur verschiedene Grade der Quellung sind und dass Nebenumstände darüber entscheiden, ob die Quellung bis zur Vacuolenbildung vorschreitet oder nicht.

Verfolgen wir zunächst die Erscheinungen selbst. Arthur Meyer[1]) beschreibt die erste Form der Quellung als ein Homogenwerden der Chlorophyllkörper, die Grana verschwinden, die Masse wird gleichmässig grün. Er weist auch darauf hin, dass man an den gequollenen Chlorophyllkörpern (seinen Autoplasten) die Einschlüsse besser erkennen kann als im ungequollenen Zustande. Den Zusammenhang zwischen dieser homogenen Quellung und dem Vacuoligwerden aufzuklären ist ihm nicht gelungen.

Im Wesentlichen ist Meyers Beschreibung richtig, nur möchte ich hinzufügen, dass die gequollene Masse immer eine mehr oder weniger unregelmässige Form behält, was auf eine etwas festere Consistenz schliessen lässt, welche dem Streben sich zur Kugelform abzurunden entgegenwirkt. Trotz der Durchsichtigkeit der gequollenen Chlorophyllkörper erhalten sie kein homogenes Aussehen, sie erscheinen vielmehr immer trübe und nur in seltneren Fällen werden sie vollständig homogen. Da schwache Alkalien dasselbe bewirken, ist diese vollständig homogene Quellung vielleicht eine Folge grösseren Kaligehaltes.

Waren vorher die Grana deutlich sichtbar, so kann man bei der Quellung gut verfolgen, wie sich der Farbstoff derselben allmählig vertheilt, die vorher scharf abgegrenzten Contouren der Grana verlieren sich und nur andeutungsweise sind in der gequollenen Masse oft noch dunklere Stellen sichtbar, die von denselben abstammen. Man erhält dann derartige Bilder, wie ich sie auf Taf. I. Fig. 1 (*Fittonia*) und Fig. 22, 23 (*Plectogyne*) abgebildet habe. Bei etwas weiter gehender Quellung können sich auch diese dunkleren Stellen verlieren, wir erhalten dann eine gleichmässig trübe Masse, wie sie uns das Chlorophyllkorn von *Ruscus aculeatus* (Taf. I, Fig. 2) darbietet. Auf dieser Zeichnung sehen wir auch, wie durch die Quellung die im Chlorophyllkorn vorhandenen Oeltröpfchen sichtbar geworden sind.

Der Grund, warum die aufgequollenen Massen fast immer trübe bleiben, rührt, meiner Ansicht nach, von der Art der Vertheilung des Chlorophylls her. Wäre die protoplasmatische Grundsubstanz in gleicher Weise gefärbt wie eine Gallerte oder Eiweiss durch gelösten Anilinfarbstoff, so wäre kein Grund vorhanden, warum der gequollene Chlorophyllkörper nicht ebenfalls so homogen und gleichmässig grün aussehen sollte. Rührt dagegen die Grünfärbung von einer Zwischenlagerung ausserordentlich feiner öliger Tröpfchen her, so können dieselben derartig klein sein, dass wir sie auch mit den stärksten Linsen nicht mehr als solche zu erkennen vermögen, gerade so wie sehr feine und nahe aneinander liegende Linien, welche das

[1]) Das Chlorophyllkorn. p. 24 u. 27.

Mikroskop nicht mehr aufzulösen vermag, von uns auch nur als trübe Stellen wahrgenommen werden.

Das Vacuoligwerden beschreibt A. Meyer[1]) in folgender Weise: „Stellt man das Mikroskop auf einen Autoplasten des im Wasser liegenden Gewebes möglichst tief ein, so sieht man bei Beginn der Einwirkung des Wassers zuerst einen hellen Punkt in den Grana auftreten, während dieselben etwas quellen; die Quellung steigert sich bei weiterer Einwirkung des Wassers bedeutend und die Vacuole vergrössert sich ebenfalls. Auf diesem Stadium bleibt die Erscheinung meist stehen; hie und da fallen aber die Blasen zuletzt zusammen und die gequollenen Grana erscheinen dann körnig und verschwommen.“ Meyer nimmt also an, dass die Vacuolen aus den Grana entstünden, und da dieselben quellen, ohne dass sich der Farbstoff löst, greift er zur Annahme, dass sie eine Grundlage besitzen[2]) müssen, welche aus Gerüstsubstanz besteht und welche dann vom Chlorophyll durchtränkt zu denken wäre. Die aus diesem Einschluss hervorgehende endosmotisch wirksame Lösung bewirkte dann die Dehnung der zugleich quellenden Gerüstsubstanz.

Diese Angaben Meyers muss ich direkt bestreiten. Wir werden sogleich sehen, dass die Vacuolen nicht aus gelöster Granasubstanz bestehen, sondern von einer Substanz herrühren, die sich zwischen den Fibrillen befindet. Bei geringer Wasseraufnahme kommen Fibrillen und Zwischensubstanz gleichmässig zur Quellung, es findet noch keine Trennung der einzelnen Fibrillen statt, bei der Vacuolenbildung wird die Zwischensubstanz verflüssigt, sie wirkt osmotisch und dehnt so die gequollene Fibrillärsubstanz aus, verändert später auch deren ursprüngliche Form.

Zumeist verläuft die Quellung und Vacuolenbildung ziemlich rasch, so dass es schwer wird den Verlauf derselben unter dem Mikroskop zu verfolgen, da schon während des Schneidens und während man den Objectträger mit den Schnitten beschickt, das Aufquellen vor sich geht. Dazu kommt noch die Quellung und das damit verbundene Undeutlichwerden der Fibrillen, wodurch der Chlorophyllkörper ein mehr homogenes Aussehen erhält. Um eine direkte Beobachtung des Quellungsverlaufs unter dem Mikroskop zu ermöglichen, muss man daher entweder Objecte auswählen, welche etwas langsamer quellen, wobei die Trennung der Fibrillen schneller vor sich geht als ihre Volumvergrösserung oder noch besser, man fixirt die quellenden Chlorophyllkörper, bevor das Endstadium der Quellung erreicht ist. Zur Nachuntersuchung empfehlenswerthe Objecte sind die Chlorophyllkörper im Stengel von *Tradescantia zebrina,* in den Blättern von *Allium porrum, Tradescantia virginica*, *Plectogyne variegata*, *Oncidium altissimum.*

Auf Taf. I, Fig. 3a ist ein Chlorophyllkorn aus der lebenden Zelle von *Tradescantia zebrina* (Stengel) abgebildet, an dem die Granastruktur nur undeutlich wahrnehmbar ist, während wir von dem Vorhandensein der

[1]) l. c. p. 25.
[2]) l. c. p. 26.

Fibrillen noch gar nichts bemerken. In Fig. 3b und 3c hat sich die Trennung von Fibrillen und Zwischensubstanz vollzogen, und wenn sich die Fibrillen auch nicht scharf abheben, so sind dieselben doch deutlich differenzirt. Man sieht in denselben noch stellenweise dunklere Punkte, die Ueberreste der Grana, welche in der oben beschriebenen Weise nach und nach undeutlicher werden. Die Fibrillen unterscheiden sich von der Zwischensubstanz nicht nur durch ihre grössere Dichte, sondern auch durch ihre Färbung. Auf diesem Stadium bleibt die Quellung nicht lange stehen, die Zwischensubstanz nimmt immer mehr Wasser auf, die ursprüngliche Anordnung der Fibrillen wird immer mehr verschoben, die nun schon in flüssigen Zustand übergegangene Zwischensubstanz sucht sich zur Kugelform abzurunden, welchem Bestreben die sehr dehnbare Fibrillensubstanz keinen wesentlichen Widerstand entgegensetzt. (Fig. 3d und 3e.) Zufällig in der Vacuole vorhandene Körnchen zeigen Brown'sche Bewegung, die Vacuole enthält also eine wirkliche Flüssigkeit, nicht blos gequollene Substanz. Der Inhalt der Vacuole besteht aus der gelösten Zwischensubstanz, d. h. aus einer Lösung des Metaxins, während die Vacuolenwand aus einer wohl quellbaren aber unlöslichen Substanz besteht, dem Chloroplastin.

Das schliesslich zu Tage tretende Bild dieser Quellung unter Vacuolenbildung ist nicht immer ganz dasselbe. Je nachdem die Vacuolen im Chlorophyllkorn untereinander communiciren oder durch Chloroplastin in einzelne Tropfen geschieden werden, erhalten wir eine einzige Blase, an deren Seite sich die Fibrillensubstanz befindet, wie z. B. bei *Mnium undulatum* Taf. I. Fig. 5 oder es entsteht ein Haufen zusammenhängender Blasen, wie ich sie für *Tradescantia zebrina* Fig. 3e und *Galanthus nivalis* Fig. 4 abgebildet habe. Dabei können die Fibrillen auseinander weichen oder sich mehr oder weniger zusammen ballen, die Grana, sowie die Fibrillen deutlich erkennbar bleiben oder nicht. An den Chlorophyllkörpern derselben Pflanze kann man in Folge dessen verschiedene Formen der Vacuolenbildung antreffen, ohne dass wir daraus auf eine Substanzverschiedenheit schliessen dürften. Bei den sehr grossen Chlorophyllkörpern der Knollen von *Phajus grandifolius*, die einen Eiweisskrystall enthalten, entsteht meist nur eine grosse Vacuole, welche die gelöste Krystallsubstanz und wohl auch die Zwischensubstanz aufnimmt, ähnlich wie wir dies auf Taf. I. Fig. 46 abgebildet sehen. Es können bei *Phajus* aber auch mehrere Blasen entstehen (Taf. I. Fig. 6), wobei die Fibrillen sich nicht von einander trennen, die Grana noch deutlich bleiben.

Noch deutlicher als an den langsam quellenden Chlorophyllkörpern mancher Pflanzen können wir die Vacuolenbildung an allen quellbaren Chlorophyllkörpern beobachten, wenn wir dieselben kurze Zeit, nachdem sie mit Wasser in Berührung gekommen sind, fixiren. Ich verwendete hierzu mit gutem Erfolge die von Flemming[1]) angegebene Mischung theilweise mit nachträglicher Saffranin-

[1]) W. Flemming, Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung. 1882. p. 381. Die Mischung besteht aus 0,25% Chromsäure, 0,1% Essigsäure, 0,1% Osmiumsäure auf 100 Theile Wasser.

färbung oder in einigen Fällen auch verdünnte Jodlösung. Zusatz von Glycerin zu den fixirten Präparaten ist stets zu vermeiden, da hierdurch die Bilder sehr undeutlich werden.

Einige Minuten nach dem Einlegen in Wasser sind die Fibrillen schon stark auseinander gewichen, überall heben sie sich mit scharfer Contour von der stark gequollenen, auch nach der Fixirung sehr durchsichtigen, homogenen Zwischensubstanz ab. Die Fibrillen bilden wohl nur sehr selten einen zusammenhängenden Faden, meist finden wir mehrere einzelne Stücke, die allerdings in verschiedener Weise verbunden sind. Bei *Platanthera bifolia* (Taf. I, Fig. 7), *Allium porrum* (Taf. I, Fig. 8) und *Tradescantia virginica* (Taf. I, Fig. 9, 10) sind die Fibrillen mehr getrennt von einander, wenig verschlungen, jedoch unregelmässig gebogen. Bei den Chlorophyllkörpern des Stengels von *Impatiens parviflora* (man muss die grösseren der dort vorkommenden wählen) haften die Fibrillen mehr aneinander und wir erhalten durch die Fixirung ein Bild, wie es sich uns in Taf. I, Fig. 16, darbietet.

So lange die Chlorophyllkörper nicht direct beim Schneiden verletzt sind, bleiben die Fibrillen noch im Zusammenhang, sonst finden wir aber auch direct einzelne Fibrillenhaufen (Fig. 11, 12), bei denen die Fixirung erst nach dem Zerfall stattgefunden hat.

Werden die Chlorophyllkörper erst später fixirt, so haben sich die Vacuolen bereits sehr stark vergrössert, es haben die oben besprochenen Dehnungen und Veränderungen stattgefunden, so dass wir aus Bildern wie Taf. I, Fig. 13—15, und Fig. 17 keine Schlüsse über die ursprüngliche Form der Fibrillen zu ziehen vermögen.

Ist die Quellung nicht zu weit vorgeschritten, so können wir an den Fibrillen ein körniges Aussehen constatiren, sie bestehen aus helleren und dunkleren Stellen (vgl. Fig. 9 u. 16), welch letztere den Grana entsprechen. Bei Saffraninfärbung nehmen diese Granareste nicht mehr Farbstoff auf, als die übrige Substanz, in Alkohol werden sie gelöst, ohne eine Vacuole zu hinterlassen. Durch die Flemming'sche Mischung werden übrigens auch im unverletzten Chlorophyllkörper die Grana fixirt, wenn auch nicht sehr deutlich.

Besonders möchte ich noch hervorheben, dass bei den Chlorophyllkörpern die Vacuolenbildung mit der Lösung eines Proteinstoffes verbunden ist, der durch fällende Substanzen, wie Flemming'sche Mischung, Jod etc. nachzuweisen ist. Es steht diese Art der Vacuolenbildung in einem gewissen Gegensatz zu dem Verhalten des Cytoplasmas, bei welchem die Vacuolenwand ebenfalls durch Plastinsubstanz gebildet wurde, die Vacuolenflüssigkeit jedoch keinen Proteinstoff enthielt (vgl. § 30). Einer weiteren Erörterung ist noch die Frage zu unterwerfen, in welchem Verhältniss steht die zuerst beschriebene Art der Quellung, welche das Chlorophyllkorn in eine gleichmässig trübe Masse verwandelt, und die mit Vacuolenbildung verbundene Quellung? Ist der Umstand, dass die Quellung in verschiedener Weise

vor sich gehen kann, durch eine differente Struktur der Chlorophyllkörper hervorgerufen oder nicht?

Schon die Thatsache, dass wir bei ein und derselben Pflanze, ja bei demselben Schnitte die Chlorophyllkörper auf die eine oder andere Art quellen sehen, weist darauf hin, dass Nebenumstände mitwirken, welche die Art der Quellung beeinflussen, denn bei derselben Pflanze müssen wohl alle normalen Chlorophyllkörper gleich zusammengesetzt sein. Ich glaube, dass hierbei die verschiedene Festigkeit, mit der die Fibrillen aneinanderhaften, entscheidend ist. Die Fibrillen selbst sind in Wasser etwas quellbar, aber unlöslich. Bei jenen Chlorophyllkörpern, wo die Fibrillen, im Zusammenhang bleibend, verquellen, wird die Vacuolenbildung nicht eintreten, nur wo sie leicht auseinanderweichen, werden Vacuolen entstehen. Eine nachträgliche Quellung schon getrennter Fibrillen konnte ich sehr gut bei *Mnium rostratum* beobachten, nachdem die Blätter durch sehr starken Frost getödtet waren. Bald nach dem Aufthauen untersucht, waren die Fibrillen wohl auseinandergewichen (Taf. I, Fig. 38 a, b), aber hatten sich selbst noch wenig vergrössert. Nach längerem Liegen in Wasser hatte jedoch allgemein das Volumen der Fibrillen bedeutend zugenommen (Fig. 38 c), d. h. sie waren selbst gequollen.

Von Bedeutung für die verschiedenartige Quellung ist auch die Menge des aufgenommenen Wassers. Bei der Aufnahme von wenig Wasser werden die Fibrillen ebenso wie die Zwischensubstanz quellen, die Zwischensubstanz verflüssigt sich jedoch noch nicht; tritt dagegen noch eine weitere Menge von Wasser hinzu, so wird die Zwischensubstanz verflüssigt, die Fibrillensubstanz auseinandergetrieben. Daher kommt es auch, dass in concentrirten Zuckerlösungen, welche die Wasseraufnahme durch die Chlorophyllkörper erschweren, niemals Vacuolenbildung eintritt. Ebenso unterbleibt dieselbe beim Einlegen verletzter Zellen in Oel, wo von dem Protoplasma nur die Zellsaftflüssigkeit imbibirt wird.

Ferner können wir beobachten, dass der Vacuolenbildung immer ein gleichmässiges Aufquellen vorangeht, aber niemals umgekehrt zuerst Vacuolenbildung mit nachfolgender Umwandlung in eine gleichmässige Masse eintritt.

Nicht ganz ohne Einfluss sind auch die im Zellsaft gelösten Stoffe. Im Allgemeinen tritt ihre Wirkung ziemlich zurück, nur wenn die Zellen sehr gerbstoffreich sind, unterbleibt die Quellung vollständig, so z. B. bei den Chlorophyllkörpern von *Aconitum lycoctonum, Geranium Robertianum* (älterer Stengel), *Quercus*. Dieselben zeigen undeutliche Grana gerade wie bei Fixirung mit Flemming'scher Mischung. Es ist dies ganz natürlich, denn der Gerbstoff fällt die Eiweisssubstanzen der Chlorophyllkörper und verhindert hierdurch das Aufquellen. Der Gerbstoff ist jedoch nur dann wirksam, wenn derselbe nicht zu verdünnt auf das Plasma einwirkt. Aus diesem Grunde sehen wir bei Pflanzen mit geringerem Gerbstoffgehalt, z. B. bei Fuchsiablättern, bei den Knollen von *Maxillaria picta*, die Chlorophyllkörper sehr wohl aufquellen, und auch Vacuolen werden hier gebildet. Das

Alter der Zellen übt keinen wesentlichen Einfluss aus, wir finden in alten Zellen gerade noch so oft Vacuolenbildung als in jungen.

Aus all' diesen Thatsachen ersehen wir, dass zwischen der Quellung mit und ohne Vacuolenbildung kein principieller Unterschied besteht, weshalb es unzulässig ist, aus der Verschiedenheit der Quellungsform auf eine Verschiedenheit in der chemischen Zusammensetzung und im Aufbau der Chlorophyllkörper zu schliessen.

Dem entsprechend ist es auch nicht am Platze, die eine oder andere Art der Veränderung bei Wasserzutritt als specifisch für bestimmte Pflanzen aufzustellen. Im Allgemeinen kann man sagen, so lange die Chlorophyllkörper noch in vollständiger Thätigkeit sind, zeigen sie fast immer Vacuolenbildung. Letztere tritt schliesslich in den meisten Fällen ein. Dabei können manche Chlorophyllkörper langsamer quellen und auf dem Stadium ohne Vacuolen stehen bleiben. Letzteres beobachtete ich constant bei den Chlorophyllkörpern folgender Pflanzen: *Begonia hycotylefolia, Impatiens Sultani, Mentha piperita* (junger Stengel), *Tradescantia zebrina* (älterer Stengel), *Fittonia Verschaffelti* (Blatt), *Cypripedium venustum, Ruscus aculeatus* (*Phyllodium*), *Blechnum occidentale* (älteres Blatt, in jüngeren Blättern Vacuolenbildung), *Coleus* (Blatt). Vacuolenbildung habe ich ausser den gleich zu nennenden Pflanzen noch oft beobachtet, ohne mir jedoch die einzelnen Fälle zu notiren. Ich nenne daher nur: *Calathea* (*Maranta*) *insignis, Tradescantia virginica, Phleum pratense, Plectogyne variegata, Impatiens parviflora, Humulus lupulus* (junges und älteres Internodium), *Platanthera bifolia, Allium porrum, Crocus vernus, Cymbidium aloefolium, Galanthus nivalis, Oncidium altissimum, Phajus grandifolius, Aloë perforata,* ferner noch bei *Mnium undulatum, Selaginella Martensii.*

Bei längerem Verweilen in Wasser coagulirt schliesslich das Chloroplastin ganz wie das Cytoplastin. Es beweist dies, dass dieser Stoff in Wasser unlöslich ist, ob jedoch in der lebenden Zelle um die Chlorophyllkörper sich ein gleiches Coagulationshäutchen bildet als wie um das Cytoplasma, scheint mir zweifelhaft. Sicher ist jedoch, dass niemals eine chemisch differente Membran sichtbar wird, wie dies z. B. beim Zellkern der Fall ist.

Die Vacuolenbildung ist schon von verschiedenen Forschern erwähnt, unter Anderen von Mohl, Hofmeister, Nägeli und Schwendener, ohne dass man die Entstehung derselben aus der Zwischensubstanz erkannt hätte, oder weitere Folgerungen über die stoffliche Differenzirung und die Struktur der Chlorophyllkörper daraus abgeleitet hätte.

Zu erwähnen wäre schliesslich noch das Verhalten der Chlorophyllkörper in siedendem Wasser. Bei kurzem Eintauchen Chlorophyllkörperhaltiger Zellen in siedendes Wasser treten zunächst die Fibrillen deutlicher hervor, sie zeigen jedoch keine Grana, da sich der Farbstoff auch schon bei solch kurzer Behandlung mit heissem Wasser in den Fibrillen vertheilt. Lassen wir die Schnitte längere Zeit in dem siedenden Wasser, so treten aus den Chlorophyllkörpern ölige Tropfen aus, welche den grössten Theil des Chloro-

phyllfarbstoffes enthalten. Die zurückbleibende plasmatische Masse zeigt entweder gar keine Struktur (*Phajus*, Taf. II, Fig. 90) oder undeutliche dunklere Stellen (Fig. 91).

Was das Verhalten der beiden die Chlorophyllkörper zusammensetzenden Proteinsubstanzen anbelangt, so ist sicher, dass das Chloroplastin in heissem Wasser coagulirt und sich auch bei längerem Verweilen in demselben nicht auflöst. Dagegen scheint es mir zweifelhaft, ob nicht etwa das Metaxin gelöst wird. Die Chlorophyllkörper werden beim Kochen wesentlich kleiner, diese Volumverminderung konnte durch das Hinweglösen des Metaxins bewirkt sein, es wäre jedoch auch möglich, dass durch die Coagulation selbst die Chlorophyllkörper kleiner würden. Vielleicht kann man diese Frage später entscheiden, falls sich herausstellen sollte, dass die in den Chlorophyllkörpern vorkommenden Eiweisskrystalle mit dem Metaxin identisch sind. Bei *Phajus* wenigstens lösen sich die Eiweisskrystalle auf und auch nach der Behandlung mit Farbstoffen konnte man keine Krystallreste nachweisen. Ich vermuthe daher, dass sich das Metaxin löst, es sind jedoch noch weitere Untersuchungen nothwendig, um die hier angeregten Thatsachen festzustellen.

Das Resultat unserer Betrachtung ist: die Chlorophyllkörper lösen sich niemals vollständig in Wasser.

Sie bestehen aus einer in Wasser quellbaren, aber unlöslichen und einer in Wasser zuerst quellbaren, dann gelösten Substanz.

Die quellbare Substanz, das Chloroplastin, bildet Fibrillen, die im frischen Zustande grün gefärbt sind und dichtere Farbstoffkügelchen enthalten, die wir mit Meyer als Grana bezeichnen. Letztere vertheilen sich bei der Quellung in dem Chloroplastin. Die lösliche Substanz verkittet gewissermaassen die Fibrillen und wird von mir als Metaxin bezeichnet.

Diese eben genannten Differenzirungen besitzen sämmtliche noch keinen anderweitigen Umwandlungs- und Degenerationsprocessen unterworfene Chlorophyllkörper der Phanerogamen. Cryptogamen wurden in zu geringer Zahl untersucht, als dass ich meine Angaben auch auf diese ausdehnen könnte, doch erscheint mir eine ähnliche Zusammensetzung nicht unwahrscheinlich.

Der mit den Chlorophyllkörpern verletzter Zellen in Berührung kommende Zellsaft hat nur geringen Einfluss auf die zu Tage tretenden Erscheinungen der Wasserwirkung.

Die Vacuolenbildung der Chlorophyllkörper beruht auf der Trennung von gequollener und löslicher Proteinsubstanz. Zur weiteren Begründung dieses letzteren Satzes verweise ich auf die im Kapitel IV, § 29 beschriebenen Versuche über künstliche Vacuolenbildung und die daran geknüpften Auseinandersetzungen.

§ 9. Einwirkung von Zuckerlösung und Eiweiss auf die Chlorophyllkörper.

In seinen Untersuchungen über die Quellung hat Reinke[1]) gezeigt, dass trockene Zellmembranen auch quellen, wenn man sie in concentrirtere Lösungen bringt, die Wasserimbibition organischer Substanz wird hierdurch nur verlangsamt, nicht aufgehoben. Es war nun interessant zu sehen, ob dasselbe bei dem Aufquellen der Chlorophyllkörper zu beobachten sei oder nicht. Wir sehen, dass die protoplasmatischen Substanzen des Chlorophyllkörpers bei der Berührung mit reinem Wasser noch Flüssigkeit aufzunehmen vermögen, sie haben ihr Quellungsmaximum also noch nicht erreicht; es fragt sich nun, ob sie auch dann noch weiter zu quellen vermögen, wenn sie nicht in Wasser, sondern in eine selbst wasseranziehende Lösung zu liegen kommen. Ich wählte hierzu als chemisch indifferente Substanz Rohrzuckerlösung verschiedener Concentration bis zur gesättigten 70proc. Lösung, die schon syrupartige Consistenz besass.

Schon beim Einbringen in eine Lösung von 5% unterblieb constant die Vacuolenbildung, selbstverständlich auch bei höher concentrirten Lösungen. Ich operirte dabei mit den schon vorher öfter genannten Pflanzen, nachdem ich mich nochmals überzeugt hatte, dass in Wasser wirklich Vacuolen entstünden. Längeres Verweilen der Chlorophyllkörper in der Flüssigkeit ändert an der Thatsache nichts.

Verdünnte Lösungen von Neutralsalzen wirken in derselben Weise wie Zuckerlösungen, durch dieselben wird ebenfalls die Vacuolenbildung hintangehalten.

Mit dieser Verhinderung der Vacuolenbildung unterbleiben jedoch nicht alle Veränderungen des Chlorophyllkörpers. In 20 proc. und mehr noch in 5 proc. Zuckerlösung sehen wir die Substanz zwischen den Grana heller werden und etwas quellen, wenn die Volumzunahme im Ganzen auch nicht sehr bedeutend ist. In 20 proc. Zuckerlösung bleiben die Grana in den meisten Fällen gut sichtbar, ja sie sind sogar deutlicher als am unverletzten Chlorophyllkorn. Obgleich die Grana farbstoffreicher sind, so erscheinen sie doch nicht so dunkel, da sie zugleich stark lichtbrechend sind und ein glänzenderes Aussehen bewahren. Die Fig. 18 (*Tradescantia*) und 20 (*Oncidium*) geben ein ungefähres Bild solcher Chlorophyllkörper.

Als eine Wirkung der Wasseraufnahme in 20% Zuckerlösung ist es ferner anzusehen, dass sich die spitzen Enden der Chlorophyllkörper im Stengel von *Selaginella Martensii* allmählich abrunden. In 5% Zucker geht die Quellung etwas weiter, wenn auch nicht sehr viel, es äussert sich dies darin, dass die Grana oft undeutlich werden und wir erhalten Bilder, wie bei der gleichmässig trüben Quellung in Wasser, so z. B. bei *Plecto-*

---

[1]) J. Reinke, Untersuchungen über die Quellung einiger vegetabilischer Substanzen. 1879 (in Hansteins Botanischen Abhandlungen).

gyne variegata Taf. I. Fig. 22 und 23 und bei *Oncidium altissimum* Fig. 19. Auch hier scheinen die durch Druck verletzten Gebilde sich leichter zu verändern.

Anders gestalten sich die Dinge, wenn wir die Chlorophyllkörper in gesättigte (circa 70 procentige) Zuckerlösung einbringen. Hierin unterbleibt die Wasseraufnahme ganz, sie quellen gar nicht und behalten ein Aussehen wie in der unverletzten Zelle.

Diese Thatsachen lassen sich ungezwungen auf folgende Weise erklären.

Eine Grenzschicht des Chlorophyllkorns ist undurchlässig für jene Stoffe, welche in demselben osmotisch wirksam sind. Ohne auf die Beschaffenheit dieser Grenzschicht einzugehen, können wir sagen, sie wirkt wie eine Plasmamembran, welche durch die in der Vacuolenflüssigkeit vorhandenen Stoffe gedehnt wird, solange sich ausserhalb des Chlorophyllkörpers eine osmotisch minder wirksame Flüssigkeit befindet. Bringen wir unsere Gebilde jedoch in Zuckerlösung, so wird diese Dehnung der Membran resp. die Wasseranziehung durch die osmotisch wirksamen Stoffe aufgehoben, es unterbleibt die Vacuolenbildung. Es stimmt dies auch mit den Resultaten überein, welche wir bei der Anwendung neutraler Salze geringerer Concentration erhalten, auch hier unterbleibt jedesmal die Vacuolenbildung.

Neben diesen osmotischen Wirkungen erfolgt Wasseraufnahme auch noch durch Imbibition. Die Wirkung der letzteren wird durch die Anwendung von Zuckerlösungen bis zu 20% nicht aufgehoben, die Chlorophyllkörper quellen ja noch etwas darin. Dagegen hört neben der osmotischen Ausdehnung auch die Wirkung der Imbibition auf, sobald wir hochconcentrirte Zuckerlösungen anwenden. Bei den gesättigten Lösungen der Neutralsalze kann man, wie wir später sehen werden, ein analoges Verhalten beobachten, nur kann man hier nicht läugnen, dass möglicher Weise noch Fällungen stattfinden, wie man sie an den Proteinkörpern fast immer beobachtet.

Wir sehen also, dass das Protoplasma sich etwas anders verhält, als die Zellmembran, indem bei dem Protoplasma in hochconcentrirten Lösungen das Quellungsmaximum nicht erreicht wird. Uebrigens schliessen die Versuche von Reinke die Möglichkeit nicht aus, dass auch die Zellmembranen bei der Anwendung gesättigter Lösungen ihr Quellungsmaximum nicht vollständig erreichen. Bringen wir Zellen von Pflanzen, welche das Austrocknen vertragen ohne abzusterben, luftrocken in gesättigte Zuckerlösung — ich überzeugte mich an verschiedenen Moosen von der Richtigkeit dieser Vermuthung —, so findet dennoch Aufquellen des Plasmas statt, ob dasselbe aber sein Quellungsmaximum erreicht, entzieht sich unserer Bestimmung.

Aus unseren Versuchen mit der Zuckerlösung geht hervor, dass das Protoplasma der Chlorophyllkörper in der lebenden Zelle nahezu sein Quellungsmaximum erreicht hat und dass durch die Imbibitionskraft desselben nur geringere Veränderungen bei der Berührung mit Wasser hervorgebracht werden,

während die Vacuolenbildung und das Auseinandertreiben der Fibrillen durch die osmotisch wirksamen Stoffe im Chlorophyllkörper bewirkt wird, unter gleichzeitiger Lösung des Metaxins.

Eine Frage, die sich unmittelbar hier anschliesst, ist die, ob durch das Verletzen der Zellen und das Herauspräpariren der Chlorophyllkörper das Imbibitionsvermögen wesentlich verändert wird. Es ist dies nothwendig zu entscheiden, da wir ja aus dem Verhalten herauspräparirter Chlorophyllkörper auf das Verhalten in der Zelle geschlossen haben. Zu dem Zwecke war es nothwendig die Chlorophyllkörper auch ausserhalb der Zelle in eine ihrem früheren Medium möglichst gleichartige Substanz zu bringen. Ich wählte frisches Hühnereiweiss, das ich direkt vom Ei auf den Objectträger laufen liess. Dasselbe enthält circa 14—15% feste Stoffe, deren Hauptmasse wie beim Plasma aus Proteinkörpern besteht. In Folge der vorhandenen Salze reagirt das Hühnereiweiss gerade so alkalisch, wie das Plasma, wodurch eine Ausfällung von Stoffen im Chlorophyllkorn hintangehalten wird. Ausserdem genügt die Menge der vorhandenen Aschenbestandtheile, um die osmotische Wirksamkeit des Hühnereiweisses zu erklären. Bei der Untersuchung fand ich in 100 ccm Hühnereiweiss 0,544 gr Asche, welche Zahl von der von K. B. Hofmann in seiner Zoochemie (p. 612) angegebenen Menge nicht wesentlich abweicht; 100 ccm Eierweiss des Huhns lassen 0,607 gr lösliche Salze diffundiren, ausserdem bleibt nur ein geringer Theil anorganischer Salze beim Eiweiss zurück. Ein weiterer Umstand dürfte vielleicht auch eine Rolle spielen, indem das native Hühnereiweiss keine eigentliche Lösung ist, sondern mehr einer Gallerte gleicht, durchzogen von dünnen Häuten, welcher Umstand es wahrscheinlich macht, dass die Chlorophyllkörper weniger leicht Wasser aufzunehmen vermögen als aus einer gleich concentrirten Lösung. All die genannten, dem pflanzlichen Protoplasma und dem Hühnereiweiss gemeinschaftlichen Eigenschaften machen es möglich, dass die aus der Zelle herauspräparirten Chlorophyllkörper in Hühnereiweiss dasselbe Aussehen behalten können wie in der unverletzten Zelle, sobald die Voraussetzung richtig ist, dass durch die Veränderungen beim Schneiden etc. das Imbibitionsvermögen nicht geändert wird.

Nur während der Anfertigung des Präparates war eine geringe Quellung möglich, da hierbei, so lange die Schnitte noch auf dem Messer ruhen, die Chlorophyllkörper mit dem Zellsaft in Berührung kommen; da sie jedoch zumeist von einer hinreichenden Protoplasmamenge umgeben sind, wirkt der Zellsaft nicht so schnell ein. Diese Fehlerquelle kommt also wenig in Betracht.

Bei dem Einbringen der Chlorophyllkörper in die Eiweisslösung macht sich nun zwischen den vollständig intakten Gebilden und jenen, welche durch Druck oder Quetschung gelitten hatten, deutlich ein Unterschied geltend.

Die intakten Chlorophyllkörper verändern ihr Aussehen entweder gar nicht oder nur sehr wenig. Sie können ihr glänzendes Aussehen behalten, mit derselben Deutlichkeit wie in der lebenden Zelle die Stärkekörnchen erkennen lassen, resp. so undurchsichtig bleiben wie sie vorher waren. Manch-

mal verloren sie ihr glänzendes Aussehen und liessen die Grana etwas deutlicher hervortreten. Diese letztere Erscheinung könnte wohl auf einer geringen Quellung der Fibrillensubstanz beruhen, wodurch die Grana etwas auseinandergerückt und in Folge dessen besser erkennbar wurden. Ich halte dies jedoch nicht für wahrscheinlich, da eine Volumvergrösserung nicht nachweisbar ist und neige daher zur Ansicht hin, dass durch die etwas veränderten Lichtbrechungsverhältnisse des Mediums die Grana deutlicher gemacht wurden.

Die in Wasser quellenden, meist auch Vacuolen bildenden Chlorophyllkörper von *Impatiens parviflora, Fittonia Verschaffelti, Oncidium altissimum*, *Phajus grandifolius, Calathea* sp., *Mnium undulatum, Trifolium repens, Impatiens Sultani, Humulus lupulus* und *Coleus* zeigten alle ein analoges Verhalten. Mehrere Objecte liess ich auch längere Zeit bis zu 3 Tagen in dem Eiweiss liegen, ohne dass Quellung eingetreten wäre. War durch die kurze Berührung mit dem Zellsaft ein geringes Auseinanderweichen der Fibrillen hervorgerufen worden, wie z. B. bei *Tradescantia virginica, Monstera deliciosa, Mentha piperita,* so ging doch die Quellung in Eiweiss nicht weiter, sondern blieb auf dem ursprünglichen Standpunkte stehen.

Im Gegensatz zu den unverletzten, ihr normales Aussehen behaltenden Chlorophyllkörpern stehen die gequetschten und durch Druck verletzten oder angeschnittenen Gebilde. Man erkennt an ihnen herausgerissene Fibrillen oder Fibrillenstückchen, die wie z. B. bei *Monstera deliciosa* bald ganz undeutlich werden und verquellen, während sie sich z. B. bei *Humulus lupulus* unverändert erhalten. Gequetschte Chlorophyllkörner erleiden noch stärkere Veränderungen, sie werden gleichmässig trübe wie bei geringer Quellung in Wasser. Anschneiden allein bewirkt nicht immer Quellung, wir sehen dies z. B. bei den Chlorophyllbändern von *Spirogyra,* die in Eiweiss zerzupft wurde, während stärkerer Druck immer eine Deformation der Chlorophyllkörper hervorbrachte. Diese Thatsachen stimmen mit dem Verhalten gegen verschiedene andere Reagentien überein, wo wir ebenfalls auf Differenzen zwischen unverletzten und verletzten Chlorophyllkörpern stossen.

Das Resultat dieser Beobachtungen ist demnach, dass durch das Herauspräpariren allein, wenn Quetschung vermieden ist, die sichtbare Struktur nicht verändert wird, sobald die Chlorophyllkörper in ein Medium kommen, das eine Wasseraufnahme erschwert, ohne direkt schädlich zu wirken. Dabei bleibt die Frage offen, ob die Chlorophyllkörper noch als lebend zu betrachten sind, es müsste dies erst durch diesbezügliche Versuche eruirt werden, nach dem Aussehen zu urtheilen muss ich es jedoch als möglich bezeichnen, dass die Chlorophyllkörper z. B. ihre Assimilationsfunktion auch nach dem Herauspräpariren beibehalten könnten.

Für Druck und Quetschung dagegen sind die Chlorophyllkörper sehr empfindlich, was auch mit der Thatsache übereinstimmt, dass die ganze Zelle durch Druck leicht getödtet werden kann.

§ 10. Einwirkung von Neutralsalzen verschiedener Concentration auf die Chlorophyllkörper.

Verhalten gegen Kochsalzlösungen.

Der Effect der Kochsalzlösung ist wesentlich verschieden je nach ihrer Concentration. In hoch concentrirter Kochsalzlösung, 20 % und mehr, findet kein Aufquellen statt. Die Struktur der Chlorophyllkörper wird nicht sehr deutlich. Sie behalten ihre Gestalt, ihr Aussehen wie in der unverletzten Zelle. Waren die Grana vorher gut sichtbar, so bleiben sie es auch beim Einlegen in die 20procentige Kochsalzlösung, hatten unsere Gebilde mehr ein glänzendes Aussehen ohne deutlich zu Tage tretende Grana, konnte dies bewahrt bleiben, meist jedoch traten die Grana etwas besser hervor wie z. B. bei *Tradescantia virginica* Taf. I, Fig. 24 und *Mnium undulatum* Fig. 35. Die Chlorophyllkörper wurden durch das Kochsalz nicht durchsichtiger, liessen also auch nur dann Stärkekörnchen erkennen, wenn diese schon vorher zu sehen waren.

Ich glaube wegen dieser geringen Aenderungen des Aussehens annehmen zu können, dass die Stoffe im Chlorophyllkörper durch concentrirtes Kochsalz keine Lösung erfahren. Haben wir die Chlorophyllkörper nicht zu lange in der Flüssigkeit liegen lassen, so zeigen sie beim Durchziehen von Wasser noch normale Quellung resp. Vacuolenbildung, nach 1—2 Tagen sind sie jedoch coagulirt, d. h. sie quellen nicht mehr.

Je mehr wir mit der Concentration der Kochsalzlösung herab gehen, desto mehr macht sich der Unterschied zwischen Fibrillen und Zwischensubstanz geltend. Die geringere Quellbarkeit des Chloroplastins in reinem Wasser finden wir in der Kochsalzlösung wieder.

In 20% Kochsalz quellen Fibrillen und Zwischensubstanz gar nicht oder nur sehr wenig; in 10% Kochsalz quellen die Fibrillen fast gar nicht, die Zwischensubstanz etwas, bei den einen Pflanzen mehr, bei den anderen weniger. Vollständig unverletzte Chlorophyllkörper behalten meist ihr normales Aussehen, während bei angeschnittenen Chlorophyllkörpern die Quellung der Zwischensubstanz so weit geht, dass die Fibrillen auseinander weichen. So z. B. bei *Fittonia Verschaffelti* Taf. I, Fig. 25—28. In Fig. 25 ist ein unverändertes Chlorophyllkorn dieser Pflanze in der Aufsicht abgebildet, Fig. 26 zeigt dasselbe als optischen Querschnitt dargestellt, in dem einen Falle erscheinen die Grana als hellere Körnchen, im anderen Falle als dunklere Höhlen. Erst beim Verletzen der Chlorophyllkörper wird die Zusammensetzung aus Fibrillen klar, dieselben werden durch die quellende Zwischensubstanz auseinander getrieben (Fig. 27 und 28); war die Verletzung nur unbedeutend, so erkennt man noch deutlich den ursprünglichen Zusammenhang (Fig. 28). Wir bemerken zugleich, dass in diesem Falle die Grana vollständig erhalten bleiben, ebenso die grüne Farbe der Fibrillen. Die Grundsubstanz ist an und für sich wenig gefärbt, durch die Quellung erscheint sie fast farblos.

Bei *Plectogyne variegata* Taf. I, Fig. 29 beobachtete ich, dass die angeschnittenen Chlorophyllkörper schliesslich in einen Haufen einzelner Fibrillenstückchen verwandelt wurden, welche in die durch Jod—Jodkalium fällbare Zwischensubstanz eingelagert waren. Die Fibrillen waren hier perlschnurförmig, entsprechend der Einlagerung der Grana.

Die Quellung kann in 10 % Kochsalz aber auch ganz unterbleiben, auch an verletzten Chlorophyllkörpern, und zwar geschieht dies, wenn der Zellsaft ziemlich stark sauer reagirt, z. B. bei *Begonia hycotylefolia;* hier wirkt die Säure in Verbindung mit dem Kochsalz, wie bei sehr vielen Proteinkörpern fällend und fixirend.

Je weiter wir mit der Concentration der Kochsalzlösung herabgehen, desto leichter nimmt die Zwischensubstanz Wasser auf, bis schliesslich bei 2 % Kochsalz nicht nur die Zwischensubstanz, sondern auch die Fibrillen stärker quellen. Zwischen der Wirkung von Wasser und der 1—2 procentigen Kochsalzlösung besteht nur der Unterschied, dass in Kochsalz niemals Vacuolen gebildet werden, was wohl auf die osmotische Leistung des Kochsalzes zurückzuführen ist. Am besten eignet sich zur Sichtbarmachung der Fibrillen eine 4 procentige Kochsalzlösung, die Quellung geht zwar langsam vor sich, es kann mehrere Stunden dauern, aber man erhält dann oft so deutliche Bilder wie bei der Quellung in Wasser mit nachträglicher Fixirung (vgl. Fig. 7—10). Bei einigen Pflanzen muss man noch weiter in der Concentration herabgehen um Quellung zu erzielen, so z. B. bei *Scilla maritima*, deren Chlorophyllkörper in 4 % Kochsalz meist ihre linsenförmige Gestalt beibehalten oder in geringem Grade mehr gleichmässig aufquellen, während in 2 % Kochsalz die Fibrillen sichtbar werden (Fig. 30 und 31), sich wohl auch von einander trennen (Fig. 32). Nach längerer Einwirkung werden die Fibrillen jedoch wieder weniger deutlich, indem sie selbst quellen, und nur die Grana lassen sich noch in der sonst gleichmässig grünen Grundmasse erkennen (Fig. 33). Aehnlich verhalten sich *Chlorophytum inornatum* und *Dracaena draco.* Bei *Mnium undulatum* waren die Grana in 20 % Kochsalz (Fig. 35) noch sichtbar geblieben, in 10 % wird die Masse mehr gleichmässig grün, nur ist die Peripherie unserer Gebilde stärker gefärbt, zugleich werden die Stärkekörnchen im Innern sichtbar (Fig. 36). In 4 % Kochsalz nach 5 Stunden, oder in 1 % nach 15—20 Minuten erfolgt die deutliche Trennung der helleren inneren Zwischensubstanz und der hier an der Peripherie gelagerten stärker grüngefärbten Fibrillensubstanz (Fig. 37a Aufsicht, Fig. 37b Querschnitt). In der 4 procentigen Lösung waren die Chlorophyllkörper auch nach 18 Stunden ziemlich unverändert geblieben, während die Fibrillen in der Lösung von 1 % Kochsalz undeutlich wurden, nach 16 Stunden waren sie mehr gleichmässig grün geworden, wohl in Folge der nachträglichen Fibrillenquellung.

Auch in den weniger concentrirten Lösungen macht sich häufig ein Unterschied zwischen verletzten und unverletzten Chlorophyllkörpern geltend, indem die ersteren bedeutend stärker quellen, während die Wasseraufnahme

in den letztern mehr gleichmässig vor sich geht. Dem entsprechend können wir, wie z. B. bei *Calathea insignis* in 4% Kochsalz Bilder erhalten wie Fig. 40 oder wie Fig. 39, die von dem Aussehen in der unverletzten Zelle in verschiedener Weise abweichen. Bei vielen Chlorophyllkörpern, die unverletzt sind, werden die Fibrillen zwar nicht wesentlich auseinandergetrieben, aber doch sehr deutlich gemacht, indem ihre Contouren besser hervortreten (vgl. hiezu Taf. I. Fig. 41, *Tradescantia virginica*).

Trotz der Mannigfaltigkeit im Einzelnen zeigt sich doch, dass das Chloroplastin (die Fibrillensubstanz) niemals löslich ist, auch nur sehr geringe Quellung zeigt, während das Metaxin in verdünnteren Kochsalzlösungen noch quillt, dass es bei höheren Concentrationen jedoch keine Quellbarkeit zeigt, sondern unverändert bleibt.

Verhalten gegen gesättigte Lösungen von schwefelsaurer Magnesia und schwefelsaurem Ammoniak.

Bei der Einwirkung von gesättigter schwefelsaurer Magnesia werden die beiden Substanzen der Chlorophyllkörper allgemein gefällt. Die vollständig unverletzten Chlorophyllkörper behalten ihr Aussehen wie in der lebenden Zelle, analog dem Verhalten in 20% Kochsalz. Haben wir dagegen stärker verletzte oder angeschnittene Chlorophyllkörper vor uns, so werden diese in einen feinen Niederschlag verwandelt, ohne dass Fibrillen und Zwischensubstanz sich wesentlich anders verhielten. Oft hatte es den Anschein, als ob die in der gesättigten Lösung befindlichen Chlorophyllkörper etwas kleiner wären, als die in der lebenden Zelle; ich glaube, dass diese Erscheinung durch Wasserentziehung hervorgerufen wird, aber nicht dadurch, dass Proteinsubstanzen im Chlorophyllkörper gelöst werden. Die Fibrillen werden sicherlich nicht gelöst und die Unlöslichkeit des Metaxins geht daraus hervor, dass die Zwischensubstanz an den verletzten Gebilden durch die schwefelsaure Magnesia niedergeschlagen wird. Lässt man Chlorophyllkörper mehrere Tage in der gesättigten Lösung von schwefelsaurer Magnesia liegen, so wird, wie wir dies auf Taf. II. Fig. 89 an einem Chlorophyllkörper von *Phajus* sehen, allmählig ein Chlorophyllderivat in Tropfenform ausgeschieden, ähnlich wie bei den gekochten Chlorophyllkörpern.

Kalt gesättigte Lösung von schwefelsaurem Ammoniak wurde von Kühne zur Unterscheidung der Peptone von den übrigen Eiweisskörpern angewendet. Lässt man diese Substanz auf die Chlorophyllkörper einwirken, so werden sie gefällt. Sie verhalten sich wie in gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia. Eine einzige Ausnahme fand ich bei den Chlorophyllkörpern aus den Knollen von *Phajus grandifolius*. Dieselben enthalten schöne Eiweisskrystalle. Dieselben sind in dem schwefelsauren Ammoniak nicht vollständig unlöslich. Die übrige Substanz des Chlorophyllkörpers wird fixirt, es bleibt, wie wir an Fig. 42 Taf. I. sehen, an Stelle des Krystalls eine Höhlung zurück, während das übrige Chlorophyllkorn fixirt wird.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass in hochconcentrirten Lösungen von Kochsalz, schwefelsaurer Magnesia und schwefelsaurem Ammoniak Chloroplastin und Metaxin unlöslich sind.

In Kochsalzlösungen von 4—10% ist das Chloroplastin unlöslich, das Metaxin quellbar, ohne sich jedoch zu lösen.

Bei längerem Verweilen in der Kochsalzlösung coaguliren die Substanzen der Chlorophyllkörper, sie verlieren ihre Quellungsfähigkeit in Wasser.

§ 11. Einwirkung von phosphorsauren Alkalien, Kalkwasser und freiem Alkali auf die Chlorophyllkörper.

Verhalten gegen KH_2PO_4.

Eine 1 procentige Lösung bietet keinen wesentlichen Unterschied gegenüber dem Verhalten der Chlorophyllkörper in Wasser, nur dass die Wasseraufnahme etwas beschränkt wird. In unverletzten Chlorophyllkörpern werden die Fibrillen etwas auseinandergetrieben und dadurch sichtbar gemacht. Haben wir es mit gut quellbaren Gebilden zu thun, so werden wie z. B. bei *Oncidium altissimum, Impatiens parviflora* die Fibrillen bald undeutlich, indem sie ebenfalls ihr Volumen vergrössern. Wir erhalten dann Bilder wie bei der gleichmässigen Quellung in Wasser.

Besser tritt die Wirkung des Monokaliumphosphates an den verletzten und angeschnittenen Chlorophyllkörpern zu Tage. Der Unterschied im Verhalten der Fibrillen und der Zwischensubstanz, den wir schon bei der Behandlung mit Wasser und Kochsalzlösungen beobachten konnten, zeigt sich hier aufs Neue. Die Zwischensubstanz verletzter Chlorophyllkörper quillt sehr stark auf, und es ist mir nicht unwahrscheinlich, dass sie in einzelnen Fällen sogar gelöst wird, wie z. B. bei *Impatiens parviflora.* Wir sehen manchmal an der übrigen Chlorophyllkornmasse eine Vacuole hängen, die sich jedoch schlecht von der umgebenden Flüssigkeit abhebt. So weit man die Entstehung derselben beobachten kann, muss man annehmen, dass sie die sehr stark gequollene oder gar gelöste Zwischensubstanz enthält. Ich konnte dies an *Impatiens parviflora* und *Oncidium suave* (Taf. I, Fig. 43) beobachten. Noch deutlicher wird das Austreten von Substanz und die dadurch bedingte Bildung einer seitlich anhängenden Vacuole bei den Chlorophyllkörpern der *Phajus*knollen. Der Eiweisskrystall verwandelt sich in eine derartige Blase, welche bei 1% KH_2PO_4 jedoch nicht immer erhalten bleibt, aber häufig genug zu sehen ist. Eigentliches Schaumigwerden d. h. weitergehende Vacuolenbildung fand niemals statt.

Sind die Chlorophyllkörper nicht zu weit gequollen, bleiben die Grana erhalten, sonst vertheilen sie sich gerade so wie bei der Wasserwirkung.

Steigern wir die Concentration der Lösung unseres Kalisalzes, so finden wir, dass je concentrirter die Lösung ist, desto geringer die Quellung wird. Bei 5% KH_2PO_4 ist die Quellung besonders an den unverletzten Chloro-

phyllkörpern gering, die Struktur sowie die Grana traten niemals sehr deutlich hervor. An den verletzten Chlorophyllkörpern fand ich dagegen noch häufig Isolirung der Fibrillen, wie z. B. bei *Fittonia,* Taf. 1, Fig. 45, oder bei *Plectogyne variegata.* Bei *Phajus,* Fig. 46, wurde der Krystall zwar gelöst, die Blase platzte aber nicht, sondern blieb mit der übrigen Substanz in Verbindung. Die letztere wurde durch den quellenden Eiweisskrystall etwas auseinander geschoben.

In 20 % KH_2PO_4 findet keine Quellung mehr statt, auch weitere Veränderungen an Struktur und Aussehen sind an den Chlorophyllkörpern nicht zu beobachten. Die Proteinsubstanzen des Chlorophyllkorns sind also hierin unlöslich.

Verhalten gegen Na_2HPO_4.

Im Wesentlichen differirt die Wirkung des zweibasischen Salzes nur wenig von der des Monokaliumphosphates. Hier wie dort verändern die hochconcentrirten Lösungen (20 %) die Chlorophyllkörper gar nicht, sobald dieselben unverletzt sind, und auch beim Anschneiden oder bei Druck nehmen die Strukturelemente nur wenig Wasser auf. Ich konnte in einigen Fällen bei *Impatiens parviflora* beobachten, wie ein Druck, der zufällig nur die Hälfte eines Chlorophyllkorns getroffen hatte, nur diese undeutlich werden und etwas quellen liess, während die andere Hälfte ihr normales Aussehen behielt.

Der Eiweisskrystall von *Phajus* wurde in derselben Weise gelöst wie bei KH_2PO_4.

In 5 % Na_2HPO_4 behielten die unverletzten Chlorophyllkörper ihr normales Aussehen, nur bei längerer Wirkung fand bei einigen Pflanzen ein Auseinanderweichen der Fibrillen statt, wie z. B. bei *Calathea insignis,* Taf. 1, Fig. 48, und bei *Plectogyne.*

An verletzten Chlorophyllkörpern ging die Quellung etwas weiter, die Fibrillen wurden undeutlicher, waren oft nur an den Granareihen zu erkennen oder an herausgerissenen Fibrillen (Fig. 47), oder sie wurden in eine homogene Masse ohne erkennbare Struktur verwandelt (Fig. 49).

Am weitesten geht die Quellung in 1 % Na_2HPO_4. Es findet hier auch bei den unverletzten Chlorophyllkörpern Wasseraufnahme statt, theilweise zeigen sie die Fibrillentrennung; da die letzteren jedoch selbst quellen und keine scharfen Contouren aufweisen, erhalten wir meist keine deutlichen Bilder, die besonders nach einiger Zeit vollständig strukturlos werden.

Vacuolenbildung findet niemals statt. Wir können also nicht sagen, ob das Metaxin in Na_2HPO_4 löslich ist. Es wäre möglich, dass dieser Stoff gelöst nach Aussen diffundirt, was sich jedoch schwer controlliren lässt. Aus der Quellung in 5 % Na_2HPO_4 können wir ersehen, dass die Zwischensubstanz leichter Wasser aufnimmt, als die Fibrillen. Ihre Löslichkeit ist nicht unwahrscheinlich, doch nicht direkt bewiesen. Mit Sicherheit können

wir aber sagen, dass die Hauptmasse des Chlorophyllkörpers sich gegen Dinatriumphosphat indifferent verhält, darin unlöslich ist, nicht gefällt wird und ihren quellbaren Zustand beibehält.

Verhalten gegen Kalkwasser.

Die Chlorophyllkörper quellen in Kalkwasser sehr stark. Sie werden entweder zu einer gleichmässig trüben Masse oder es werden Vacuolen gebildet, vollständige Lösung erfolgt niemals. Wir sehen die eine oder die andere Quellungsform bei derselben Pflanze auftreten, wenn auch das Zahlenverhältniss beider wechselt. So fand z. B. bei *Oncidium altissimum* fast immer Vacuolenbildung statt, während ich bei *Fuchsia* ungefähr ebenso oft gleichmässiges Aufquellen als Vacuolenbildung beobachten konnte und bei *Tradescantia virginica*, *Impatiens parviflora*, *Phajus grandifolius* die Zahl der gleichmässig aufgequollenen überwog.

Ebenso wie in Wasser sehen wir, dass die Chlorophyllkörper bei gleichmässiger Quellung nicht vollständig klar homogen werden, sondern trübe bleiben (vgl. Fig. 50 *Phajus* und Fig. 51 *Fittonia*); lassen wir derartige Chlorophyllkörper längere Zeit in dem Kalkwasser liegen, so aggregiren sich die feinen Körnchen, welche die Trübung hervorriefen, wir erhalten dann mehr grobkörnige Bilder, ähnlich denjenigen, welche durch die Behandlung mit 3% Essigsäure entstanden sind (vgl. hiezu Taf. II, Fig. 63).

Die gequollenen Chlorophyllkörper sind übrigens so durchsichtig, dass man die Stärkekörner gut erkennen kann.

Die Vacuolenbildung geht ziemlich schnell vor sich und nur selten, z. B. bei *Fittonia* (Taf. I. Fig. 52) konnte ich Fibrillen und Zwischensubstanz in ihrer ursprünglichen Vertheilung beobachten. Der Grund, warum die Fibrillen sich nicht scharf abheben, liegt in ihrer eigenen bedeutenden Quellungsfähigkeit.

Das Kalkwasser wirkt sogleich tödtend auf die Chlorophyllkörper, weshalb wir auch keinen Unterschied zwischen verletzten und unverletzten Gebilden constatiren konnten.

Die allenthalben auftretende Vacuolenbildung macht es uns wahrscheinlich, dass die beiden Substanzen der Chlorophyllkörper sich ebenso gegen Kalkwasser verhalten als gegen die vorher genannten Reagentien. Wenn wir auch die Löslichkeit des Metaxins bei den gleichmässig gequollenen Chlorophyllkörpern nicht demonstriren konnten, so sprechen unsere Reactionen doch auch nicht dagegen. Das Chloroplastin ist jedenfalls stark quellbar aber unlöslich.

Verhalten gegen Kalilauge.

Die Einwirkung von Kalilauge auf den Zellinhalt ist schon von verschiedenen Seiten besprochen worden, ohne dass man auf die Unterschiede Rücksicht genommen hätte, welche die einzelnen Bestandtheile der Zelle darbieten. Der Vollständigkeit halber führe ich die bekannte Thatsache an,

dass verdünnte Kalilauge ein gleichmässiges starkes Aufquellen des ganzen Chlorophyllkörpers hervorruft, während in concentrirter Kalilauge wohl die Stärkekörner aber nicht das Protoplasma unserer Gebilde aufquillt.

Schon sehr geringe Mengen von Kalilauge, 0,1% und 1% bewirken sehr starkes Aufquellen. Um die hierbei stattfindende Volumvergrösserung zu veranschaulichen, verweise ich auf Taf. II. Fig. 53 und Fig. 55, welche die Chlorophyllkörper von *Impatiens* im ungequollenen und durch 1% Kalilauge veränderten Zustande darstellen. Fig. 54 gibt uns die Grösse eines Chlorophyllkorns wieder, das in concentrirter Kalilauge lag, wir sehen, sein Volumen hat sich nicht wesentlich verändert. Eine Grössenzunahme findet auch dann nicht statt, wenn die Chlorophyllkörper Stärke enthalten, die Letztere quillt auch in concentirtem Kali sehr stark, es wird dann die plasmatische Substanz auf eine Randzone beschränkt (Fig. 56 *Mnium*) oder doch wenigstens um die quellenden Stärkekörnchen herum zusammengedrängt (Fig. 57 *Oncidium*). Zum Nachweis, dass die helleren Stellen wirklich Stärke sind, ist es nothwendig die Chlorophyllkörper vor der Jodbehandlung in Essigsäure zu bringen, da bei Zusatz von Wasser das Protoplasma zu stark quillt.

Von einer feineren Struktur ist weder bei dem Einlegen in das concentrirte Kali, noch bei der nachherigen Fällung durch Essigsäure etwas zu beobachten.

Bei der starken Quellung in verdünnter Kalilauge werden die Chlorophyllkörper fast vollständig homogen und klar. Sie verlieren zumeist ihr trübes Aussehen und werden gleichmässig gelblichgrün gefärbt, sehr durchsichtig, so dass eingelagerte Oeltröpfchen und Stärkekörnchen deutlich zum Vorschein kommen. Als Beispiel hierfür mögen die Chlorophyllkörper von *Phajus* (Fig. 58) dienen, welche nach der Behandlung mit 0,1% Kalilauge schon die vorhandenen Oeltröpfchen zeigen, die sich bei Zusatz von Alkohol lösen. Eine eigentliche Struktur hat der durch Alkohol niedergeschlagene Chlorophyllkörperrest nicht mehr, bei der Quellung ist also die ursprüngliche Struktur vollständig zerstört worden.

Zu gleicher Zeit mit dieser durchgreifenden Zerstörung der Struktur muss auch eine Veränderung des Chlorophyllfarbstoffes vor sich gehen. Nicht nur, dass die Chlorophyllkörner gelblich grün aussehen, diese klare gleichmässige Färbung der gequollenen Masse spricht für eine Lösung des Chlorophylls resp. seiner Träger, während wir bei den trüb gequollenen Chlorophyllkörpern den Farbstoff in Verbindung mit einem ölartigen Körper in Tröpfchenform vor uns haben. Es würde diese Beobachtung mit den Anschauungen von Hansen[1]) übereinstimmen, welcher annimmt, dass sich das Chlorophyll, wie es in der Pflanze vorkommt, durch Natronlauge verseifen lässt. Eine derartige Chlorophyllseife mag sich wohl so gleichmässig in dem gequollenen Chlorophyllkorn vertheilen.

1) A. Hansen, Der Chlorophyllfarbstoff, Arbeiten des Botanischen Instituts in Würzburg. Bd. III, p. 123 ff. 1884.

Theilweise werden die Chlorophyllkörper auch in der verdünnten Kalilauge nicht vollständig homogen, es findet dies aber nur dann statt, wenn die Zellen sehr gerbstoffreich sind und man eine zu geringe Menge von Kalilauge 0,1% angewendet hat. Das Chlorophyllkorn bleibt dann wie z. B. bei *Quercus*blättern mehr körnig trübe. Diese Trübung ist hier nicht durch die Vertheilung des Chlorophyll verursacht, sondern rührt davon her, dass der Gerbstoff auf das Chloroplastin auch noch in schwach alkalischer Lösung etwas fällend wirkt. Bei 1% Kalilauge war diese Wirkung des Gerbstoffes schon fast vollständig aufgehoben. Bei Pflanzen, die geringere Mengen von Gerbstoff enthielten, z. B. bei *Fuchsia*blättern quellen die Chlorophyllkörper auch schon in 0,1% Kalilauge stark auf.

Da die Kalilauge ebenso wie das Kalkwasser sogleich tödtend wirkte, besteht kein Unterschied zwischen unverletzten und verletzten Gebilden.

Resumiren wir die Resultate dieses Paragraphen in Kürze:

Monokalium- und Dinatriumphosphat verhalten sich relativ indifferent gegen die Substanzen des Chlorophyllkörpers.

In diesen beiden Salzen macht sich wiederum analog der Wirkung von Wasser oder Neutralsalzen ein Unterschied in der Quellungsfähigkeit von Fibrillen und Zwischensubstanz geltend, indem die letztere stärker quillt, sich theilweise auch löst.

Ausserdem stellt sich in den beiden Kaliphosphaten ein Unterschied zwischen verletzten und unverletzten Chlorophyllkörpern heraus, indem die letzteren viel länger der Einwirkung der Salze widerstehen.

Im Allgemeinen quellen die Chlorophyllkörper in dem Dinatriumphosphat nicht viel mehr als in dem Monokaliumphosphat. In Kalkwasser und Kalilauge wird die natürliche Struktur vollständig zerstört.

Die Vacuolenbildung in Kalkwasser deutet darauf hin, dass das Metaxin auch löslich ist; wenn diese Vacuolenbildung nicht immer eintritt, so ist dies vielleicht durch die zu starke Quellung des Chloroplastins bedingt, wodurch dasselbe durchlässig wird für die Vacuolenflüssigkeit.

In verdünnter Kalilauge findet starke Volumvergrösserung statt, zugleich scheint der Chlorophyllfarbstoff verseift zu werden, wodurch es möglich wird, dass der gequollene Chlorophyllkörper ein vollständig homogenes klares Aussehen erhält.

Aus hoch concentrirten Lösungen von KH_2PO_4, Na_2HPO_4 und KOH vermag die Plasmasubstanz der Chlorophyllkörper kein Wasser aufzunehmen, sie quellen nicht.

Vollständige Lösung findet nirgends statt.

§ 12. Einwirkung von freien Säuren auf die Chlorophyllkörper.

Verhalten gegen Essigsäure.

Verdünnte Essigsäure wird schon seit Langem ebenso wie manche andere organische Säuren zum Fixiren des Plasmas verwendet. Man fand jedoch, dass die Essigsäure nicht bei allen Objecten gleichmässig gut zu verwenden ist. Die Ursache davon ist, dass Essigsäure nur innerhalb ganz bestimmter Grenzen gut fixirend wirkt, d. h. die Plasmakörper in einen unlöslichen Niederschlag verwandelt und dass die einzig fixirend wirkenden geringen Concentrationsgrade nicht alle Stoffe gleichmässig fällen. Die Verwandlung des Plasmas geht ausserdem so langsam vor sich, dass die feineren Strukturelemente vor der Fixirung leicht Verschiebungen durch noch quellungsfähig gebliebene Substanzen erleiden.

Bei den Chlorophyllkörpern bewirkt eine Lösung von 0,2% Essigsäure nur dann vollständige Fixirung, wenn die Zellen etwas Gerbstoff enthielten, so z. B. bei *Fuchsia* und *Quercus*. Ohne diese Mitwirkung des Gerbstoffes werden die Fibrillen sehr deutlich, das Chloroplastin wird langsam in einen unlöslichen Zustand übergeführt, während das Metaxin noch etwas quillt. Die Fibrillen sehen hier — man vergleiche Taf. II, Fig. 59 — dünner aus als bei der Behandlung mit Neutralsalzen (Taf. I, Fig. 27, 28), sie sind schärfer begrenzt, was auf eine geringe durch die Säurewirkung verursachte Schrumpfung zurück zu führen ist. Da zugleich die Zwischensubstanz etwas quillt, sich auch nicht von den Fibrillen trennt, entstehen keine Lücken. Bei längerem Liegen quillt die Grundsubstanz weiter, wodurch die Fibrillen gedehnt und blasenförmig aufgetrieben werden. Selten verwandelt sich das Chlorophyllkorn in einen Haufen von Blasen, es sind meistens nur 1—2 grosse Vacuolen entstanden, wie wir dies an Fig. 60 *(Fittonia)* sehen können.

Diese Vacuolenbildung, dieses Ausdehnen der Fibrillärsubstanz beweist uns, dass die verdünnte Säure das Chloroplastin nicht sofort in einen unlöslichen Niederschlag verwandelt, der ja nicht mehr dehnbar wäre, sondern bei der Dehnung durch die Vacuolenflüssigkeit einfach zerreissen würde. So geringe Säuremengen lassen also die Strukturelemente besser hervortreten, ohne jedoch eigentlich zu fixiren.

Dieser Strukturnachweis gelingt auch noch an Chlorophyllkörpern, die in Rückbildung begriffen sind, wie z. B. im Stengel von *Vicia sativa* (Taf. II. Fig. 61), dessen Chlorophyllkörper sehr klein und unansehnlich sind und offenbar nur wenig mehr assimiliren.

Eine wesentliche Aenderung geht bei der Behandlung mit 0,2% Säure in der Färbung der Fibrillen vor sich. Der Farbstoff der Grana vertheilt sich in denselben, die Grana selbst sind nicht mehr deutlich zu erkennen (vgl. Fig. 59 und 61). Dieser Umstand mag es erklären, warum Schmitz und Frommann die Fibrillen für gleichmässig grün gefärbt halten, denn auch bei anderen fixirenden Substanzen kann eine derartige Vertheilung

des Chlorophylls eintreten. Der Farbstoff selbst wird bei kürzerer Dauer der Säurewirkung chemisch noch nicht verändert, wenigstens behält er sein rein grünes Aussehen. Lassen wir jedoch die Schnitte eine Woche lang in der Säure liegen, so findet allmählich Ausscheidung von sog. Hypochlorinkrystallen statt, d. h. von Säurechlorophyll. Unter Umständen genügt hierzu schon die im Zellsaft vorhandene Säure, wenn man nur Sorge trägt, dass die Zellen z. B. in Zuckerlösung liegend langsam absterben, so dass der Zellsaft nicht sogleich herausdiffundiren kann.

Bei 1% Essigsäure finden wir im Wesentlichen dieselben Erscheinungen wie bei 0,2%, auch hier tritt der Unterschied in der Quellbarkeit der beiden Substanzen in derselben Weise hervor.

Je mehr wir die Concentration der Essigsäure steigern, desto stärker wird die Quellung, die sich jetzt nicht mehr auf das Metaxin allein beschränkt, sondern sich auch auf das Chloroplastin erstreckt.

Bei 3% Essigsäure erhalten wir nicht immer dasselbe Resultat, hauptsächlich quillt die Zwischensubstanz, doch bleiben die Fibrillen nicht wesentlich in der Quellung zurück, so dass wir bald eine gleichmässig trübe und strukturlose Masse vor uns haben. Bei den unverletzten Chlorophyllkörpern bleiben die Fibrillen noch etwas länger sichtbar, ja ich fand sie selbst nach 24 Stunden noch theilweise erhalten. Auch kommt es vor, dass die Chlorophyllkörper blasigvacuolig werden, wie z. B. bei *Phajus* Taf. II, Fig. 62. Das Chlorophyll wird gelblicher, nach einiger Zeit erfolgt im Chlorophyllkörper Ausscheidung feiner brauner Tröpfchen von Säurechlorophyll, während noch die Grundmasse gelblich grün erscheint (*Phajus* Fig. 63).

Dieselben Veränderungen finden wir in 10% Essigsäure wieder, nur sind hier Fibrillen und Grundsubstanz nicht mehr zu unterscheiden. Auch hier findet erst nach längerer Zeit (24 Stunden) Ausscheidung feiner brauner Tröpfchen von Säurechlorophyll statt (*Fittonia* Taf. II, Fig. 64).

In 50% Essigsäure quellen die Chlorophyllkörper sogleich auf, sie werden zunächst braungelb, nach einiger Zeit erfolgt Ausscheidung von braunen Säurechlorophylltröpfchen, die eventuell bei gleichmässiger Vertheilung, z. B. bei *Phajus*, Fig. 66, den natürlichen Grana ähnlich sein können. Sie sind jedoch nicht direkt durch einfache Umwandlung aus den Grana entstanden, sondern erst durch Zusammenlaufen kleinerer Säurechlorophylltröpfchen, die Vertheilung derselben ist in Folge dessen meist unregelmässig (vgl. *Fittonia*, Taf. II, Fig. 65). Durch Erwärmen wird die Bildung des Säurechlorophylls bedeutend beschleunigt, es erfolgt sofort die Ausscheidung der braunen Tropfen. Die protoplasmatische Masse bleibt schwach gelblich bis bräunlich gefärbt (Fig. 65, 66, 67). Nach längerem Liegen erhalten die ausgeschiedenen Tröpfchen jene gewundenen eigenthümlichen Formen (*Phajus,* Fig. 67), wie sie Pringsheim[1]) für das Hypochlorin abgebildet und beschrieben hat.

[1]) Jahrbücher für wiss. Botanik. Bd. XII, Taf. 18, 20, 21 etc. p. 297, 298.

In Eisessig erfolgt starke Quellung, das Chlorophyll wird sogleich gelblich gefärbt, dann in kurzer Zeit gelöst, so dass die plasmatische Grundlage der Chlorophyllkörper vollständig entfärbt ist. Sie hebt sich von der umgebenden Flüssigkeit sehr wenig ab, so dass man zur Ansicht kommen kann, sie sei gelöst worden. Beim Einlegen in wässrige Saffraninlösung nahmen die Chlorophyllkörper jedoch noch Farbstoff auf. Eine Struktur ist an denselben nicht zu beobachten.

Diese Bildung einer durchsichtigen Gallerte in Folge der Einwirkung concentrirterer Essigsäurelösung, gleicht vollständig der Bildung von Säuregallerte, wie sie Rollet[1]) bei der Einwirkung von Säuren sowohl auf Serumglobulin als Serumalbumin beobachtet hat. Diese Säuregallerte, welche Rollet mit dem Namen Albuminid belegt, entsteht bei allmähligem Säurezusatz, oder wenn man den Eiweissstoff in einem Dialysator auf Säure schwimmen lässt. Ich konnte mich an der aus reinem Eieralbumin dargestellten Gallerte davon überzeugen, dass dieselbe vollständig homogen war und frei von Bildungen, welche einer Struktur ähnlich sahen. Die von Rollet beobachtete Lösung der Gallerte in viel Wasser konnte ich auch an den Chlorophyllkörpern beobachten. In derselben Weise wurde der in den Chlorophyllkörpern von *Phajus* vorkommende Eiweisskrystall in eine Gallerte verwandelt. In den Figuren 66 und 67 sehen wir ihn noch als distincten Körper mit der gelblich gefärbten Chlorophyllkornsubstanz in Verbindung. In sehr verdünnten Säuren löst er sich vollständig auf.

Verhalten gegen Salzsäure.

Die Wirkung von Essigsäure und Salzsäure ist nur theilweise identisch, u. z. wirken sie nur verdünnt in derselben Weise auf die Chlorophyllkörper ein, während der Effect der übrigen Concentrationsgrade verschieden ist.

Bei 0,01% Salzsäure finden dieselben Veränderungen statt, wie in Wasser, weder die Vacuolenbildung noch die gleichmässige Quellung zeigen einen Unterschied.

In 0,1% Salzsäure finden wir ähnliche Erscheinungen wie in 0,2% Essigsäure, nur dass die Fibrillen sich nicht immer so gut erhalten, theilweise sogar vollständig verquellen. Bei *Phajus* waren sie z. B. besser als bei einer anderen Behandlung zu sehen, während bei *Fittonia* Taf. II, Fig. 68 und *Mnium undulatum* Taf. II, Fig. 70 die Struktur vollständig verwischt wird, indem die Fibrillen selbst quellen und die Chlorophyllkörper auf diese Art in eine gleichmässig trübe Masse verwandelt werden, in der nur noch die Ueberreste der Grana sich als dunklere Stellen abheben. Wo diese gleichmässige Quellung unterbleibt, kommt es wie z. B. bei *Tradescantia virginica* zur Vacuolenbildung. Jegliche Quellung unterbleibt, sobald die Zellen wie bei *Quercus* zu viel Gerbstoff enthalten.

---

1) Sitzb. d. K. Academie d. Wiss. Wien 1881. Bd. 84, Abth. 3, p. 332—380. Auch Maly's Jahresbericht über d. Fortschritte d. Thierchemie. Bd. 11, p. 3.

Wenn bei 0,1 % Salzsäure die Wirkung also ziemlich verschieden ist, so finden wir im Gegensatz hierzu constant bei allen Chlorophyllkörpern starkes Aufquellen, sobald wir eine 1 procentige Salzsäure anwenden. Die stärkere Quellung beruht darauf, dass auch die Fibrillen wesentlich von ihr berührt werden, wobei kein Unterschied zwischen Fibrillen und Zwischensubstanz zu Tage trat. Wir erhalten eine vollständig gleichmässig grüne Masse (*Fittonia* Taf. II, Fig 59), welche die Oeltröpfchen und Stärkekörner gut erkennen lässt. Die Vertheilung der Grana ist eine vollständige. Wirkt zugleich der Gerbstoff der Zelle mit ein, wie z. B. bei *Quercus*, so ist die Quellung wohl etwas geringer, die Masse wird weniger homogen, immerhin findet Quellung statt. Bei *Mnium* fand ich die Volumvergrösserung ungefähr ebenso stark als in 0,1 % Salzsäure, während bei *Fittonia* in 1 % Salzsäure eine stärkere Volumvergrösserung zu Tage trat.

Während also bei der Anwendung von verdünnter Salzsäure mehr oder weniger vollständige Quellung erzielt wird, treten bei der Einwirkung von concentrirter Salzsäure Fällungserscheinungen auf. Die hier stattfindende Fällung unterscheidet sich wesentlich von der durch Alkohol, Picrinsäure, Osmium-Chrom-Essigsäure etc. bewirkten, indem in der concentrirten Salzsäure keine Fibrillen sichtbar werden, die Chlorophyllkörper also eigentlich structurlos fixirt waren und nur die verschiedene Vertheilung hellerer und dunklerer Stellen zur Ansicht führt, es läge eine der ursprünglichen analoge Struktur vor. Wenn wir von den Veränderungen des Chlorophylls absehen, so gleicht die durch die Salzsäure bewirkte Fällung der in gesättigten Lösungen von Neutralsalzen. Die Proteinkörper der Chlorophyllkörper sind unlöslich in der concentrirten Säure, werden aber durch nicht zu lange dauernde Berührung ihrer Quellbarkeit in Wasser oder verdünnter Säure nicht beraubt.

Durch diese Fällungserscheinungen in concentrirter Salzsäure hat Pringsheim [1]) seine Ansicht über die Struktur der Chlorophyllkörper gestützt und ist, wie schon oben angedeutet wurde, zu wesentlich anderen Resultaten gelangt, weshalb wir auf seine Angaben etwas näher eingehen wollen.

Pringsheim verwendete zu seinen Versuchen concentrirte Salzsäure, welche mit dem vierfachen Volumen Wasser versetzt war, es würde diese Concentration der von mir verwendeten 20 procentigen Säure entsprechen.

Ueber die Reaction selbst äussert sich Pringsheim [2]) folgendermassen: „Werden nun grüne Gewebe mit Salzsäure behandelt, so bemerkt man an ihnen unmittelbar nach Hinzufügung der Säure keine andere auffallende Erscheinung als ihre plötzliche Farbenänderung. Das ganze Gewebe sowohl, wie die einzelnen Chlorophyllkörner in den Zellen, nehmen, wie wohl Jeder weiss, der Untersuchungen über Chlorophyll angestellt hat, sofort einen gelb-

[1]) N. Pringsheim, Ueber Lichtwirkung und Chlorophyllfunction. Jahrbücher f. wiss. Botanik. Bd. XII, 1879—81. p. 294 ff.

[2]) l. c. p. 295.

lichgrünen, goldgelben oder mehr bräunlichen Ton an. Hierbei findet jedoch weder eine Zerlegung des grünen Farbstoffes statt — wie man dies so oft fälschlich behauptet hat — noch nimmt die Salzsäure selbst den Farbstoff auf, sie bleibt ganz farblos."

„Die Chlorophyllkörper selbst zeigen — abgesehen von dem eben besprochenen Farbenwechsel, der ja die Farbenänderung des ganzen Gewebes schon äusserlich hervorruft — keine wesentliche Veränderung weder in ihrer Form noch in ihrer Struktur, nur sind sie jetzt nicht mehr rein chlorophyllgrün, sondern zeigen gleichmässig durch ihre ganze Substanz einen etwas nach gelb oder blau neigenden Farbenton. Allein schon nach wenigen Stunden finden sich in denselben, vornehmlich an ihrer Peripherie, dunkle, röthlichbraune oder rostfarbige oder gegen die übrige Substanz des Chlorophyllkorns scharf abgegrenzte Massen vor, von denen vor Einwirkung der Säuren nichts zu bemerken war."

Pringsheim glaubt nun, dass diese ausgetretenen braunen Massen, aus denen sich nach längerem Liegen gewundene, peitschenförmige, krystalloidische Gebilde entwickeln, ein Gemenge sind von dem sogenannten Hypochlorin mit Derivaten des Chlorophyllfarbstoffes. Diese Ansicht ist durch die Untersuchungen A. Meyers[1]) beseitigt, welcher nachwies, dass die ausgetretenen Massen mit dem Chlorophyllan Hoppe-Seylers identisch sind, also ein durch Säurewirkung entstandenes Product des Chlorophylls.

Sehen wir von der unrichtigen Deutung der ausgetretenen braunen Massen ab, so kann man Pringsheims Beschreibung der Salzsäurewirkung, soweit ich sie angeführt habe, vollständig acceptiren. Dagegen muss ich die weitere Behauptung Pringsheims bestreiten, dass nach der Behandlung mit der Salzsäure oder nach dem Erwärmen ein Gerüst zurückbleibt, das eine regelmässige Schwammstruktur zeigt.

Pringsheim[2]) sagt: „Um dieselbe deutlich zu erkennen, bedarf es guter und starker Immersionslinsen. Soviel ist leicht zu sehen, dass die Grundsubstanz der Chlorophyllkörper keine strukturlose, gleichartig homogene Substanz darstellt. Man könnte nach einigen Bildern, die man erhält (Taf. XXIV. Fig. 6), versucht sein anzunehmen, dass sie von einer gleichmässigen weicheren Substanz gebildet wird, in welches dichtere Elemente, Körperchen oder Stäbchen, etwa wie in manchen Zuständen ruhender Zellkerne, eingebettet sind. Doch erhält man an guten Präparaten und in Fällen, in welchen die Zeichnung am schärfsten erscheint (l. c. Taf. XXIV. Fig. 5, 7, 9) den bestimmten Eindruck eines von Höhlen durchsetzten Gebildes von gleichsam siebförmiger Struktur; an der Peripherie der erwärmten, oder mit Salzsäure behandelten Chlorophyllkörper (Taf. XXV.) lässt sich fast regelmässig hier und dort wahrnehmen, dass die austretenden grünen Tropfen und die rostbraunen Massen noch hie und da in diese Höhlen und

1) Das Chlorophyllkorn. p. 22.

2) l. c. p. 312.

Lücken der porösen Substanz hineinragen und dass sie aus diesen wie aus den Maschen eines Netzes hervorgetreten sind."

„Die feste Grundsubstanz der Chlorophyllkörper, die ihre Form bestimmt, bildet daher ein schwammförmiges Gerüste, welches im normalen Zustande von dem ölartig flüssigen Träger des Farbstoffes und dem Hypochlorin durchtränkt ist."

Wie wir aus dieser wörtlich citirten Beschreibung ersehen, drückt sich Pringsheim, was die thatsächlichen Beobachtungen anbelangt, sehr vorsichtig aus, er giebt die Möglichkeit zu, es hier mit Stäbchen und Körnchen zu thun zu haben, er spricht davon, dass man an guten Präparaten den Eindruck habe, dass ein mit Höhlen durchsetztes Gebilde vorliege, die ihm vorgelegenen Bilder scheinen mir demnach wohl nicht so deutlich gewesen zu sein als seine Abbildungen.

Nachdem ich die Chlorophyllkörper in der von Pringsheim angegebenen Weise behandelt habe, bin ich zur Ueberzeugung gelangt, dass diesem Forscher verschiedene Bilder vorgelegen haben, welche er irrthümlicher Weise identificirt hat. Beim Einbringen der Chlorophyllkörper in 20 % Salzsäure erscheinen, wie Pringsheim angiebt, die Chlorophyllkörner anfangs strukturlos, sie sind hellglänzend, auch noch gelblichgrün gefärbt. An den bei weiten meisten Chlorophyllkörpern erhält sich diese Strukturlosigkeit auch nachdem sie vollständig entfärbt sind. Durch den Austritt des Chlorophyllans entstehen in all diesen Fällen niemals Lücken oder Spalten. Ich frage nun, warum sieht man an all diesen zahlreichen Chlorophyllkörpern keine Höhlungen, trotzdem die Chlorophyllkörper vollständig entfärbt sind?

Bei einer kleineren Anzahl von Chlorophyllkörpern werden, nach dem Einlegen in die Salzsäure, nicht immer ganz regelmässig vertheilte dunklere Stellen sichtbar, die jedoch keineswegs scharfe Contouren oder eine genaue Abgrenzung aufweisen, wie Pringsheim es abbildet. Wir sehen dieselben in ihrer ganzen Undeutlichkeit auf Taf. II. Fig. 71 (*Fittonia*) und Fig. 72 (*Vallisneria*) abgebildet. Auch wenn die Grana, wie z. B. bei *Fittonia* vorher sehr schön sichtbar waren, so sind dieselben nach der Salzsäurebehandlung nicht mehr wahrzunehmen, es hat demnach hier eine Vertheilung des Farbstoffes stattgefunden und die hier zu beobachtenden Stellen können von einer unvollkommenen Vertheilung des Farbstoffes herrühren. Wir haben ähnliches schon bei der Quellung in Wasser, in Na_2HPO_4 und in 0,1 % Salzsäure zu beobachten Gelegenheit gehabt, wo von den Grana auch weiter nichts als dunklere Stellen übrig geblieben sind. Die letzteren sind hier wie da niemals Höhlungen, sondern nur etwas dichtere oder auch dunklere Substanz.

Es ist leicht möglich, dass diese Derivate der Grana mitwirken, das bezeichnete Aussehen der Chlorophyllkörper hervorzurufen, ich glaube jedoch, dass noch ein anderer Umstand mitwirkt, diese dunkleren Stellen im Chlorophyllkörper zu erzeugen. Dieselben sind, obschon unvollkommen, auch in den vollständig entfärbten Chlorophyllkörnern sichtbar (Taf. II, Fig. 73

Vallisneria und Fig. 74 *Impatiens*). Rührten sie direkt von der Granasubstanz her, so mussten wir zur Annahme greifen, dass nach der Zerstörung des Chlorophylls respective nach der totalen Entfärbung ein Körper zurückbliebe, welcher durch die Salzsäure nicht angegriffen würde, sondern wegen seines dichteren Gefüges in der weniger dichten Grundsubstanz auch fernerhin noch sichtbar bliebe. Bei der sehr complicirten Zusammensetzung des Chlorophylls ist dies keine so unmotivirte Annahme, wie leicht kann ein Derivat desselben zurückbleiben, das durch die Salzsäure nicht weiter angegriffen wird. Bei vollkommener Ausscheidung des Chlorophylls in Tropfenform kann möglicher Weise auch dieser Stoff mit ausgeschieden werden und so in der Mehrzahl der Fälle unsichtbar bleiben. Dies sind jedoch alles Annahmen, für die wir den direkten Beweis zu führen kaum im Stande sind.

Sehen wir uns daher nach anderen Hilfsmitteln um. Behandeln wir Chlorophyllkörper z. B. von *Vallisneria*, einer Pflanze, welcher Pringsheim unter anderen seine besten Präparate verdankte, zuerst einige Zeit mit Salzsäure unter schwacher Erwärmung und fügen, nachdem dieselben entfärbt sind, Alkohol zu, so werden die Chlorophyllkörper-Grundsubstanzen besser fixirt als vorher, zugleich erkennt man aber (Fig. 75), dass die vorher dunkler erscheinenden Stellen einer fibrillären Masse angehören, sie bilden die Ecken und Knotenpunkte von Fibrillen, sind aber niemals Höhlungen oder Vertiefungen oder Lücken, wie Pringsheim annimmt. Eine ähnliche, wenn auch nicht so deutliche Fibrillenstruktur konnte ich beobachten, als ich die Chlorophyllkörper von *Vallisneria* zuerst ¾ Stunden in Wasserdampf, dann 6 Stunden in Wasser verweilen liess und sie schliesslich in 20% Salzsäure einbrachte. An diesem Präparat Fig. 76 waren die Fibrillen ebenfalls gut zu sehen, wenn auch die Knotenpunkte nicht immer so rund waren wie die dunkleren Stellen im Chlorophyllkorn.

Was Pringsheim zur Annahme von Höhlungen verleitete, waren durchwegs körnig-fibrilläre Gebilde, bestehend aus fester Substanz.

Es gibt auch günstige Objecte, z. B. *Tradescantia virginica* und *Plectoggne*, bei denen dieser Zusammenhang schon kurz nach dem Einlegen in die Salzsäure zu Tage tritt, es erscheinen dann mehr oder weniger deutlich Fibrillen in den Chlorophyllkörpern oder doch wenigstens Strichelungen, welche die Fibrillengrenzen andeuten.

Bei wiederum anderen Chlorophyllkörpern, für welche uns *Phajus grandifolius* als Beispiel dient, bleiben anfangs noch fibrilläre Bildungen sichtbar, während später (nach 16 Stunden) die Fibrillen nicht mehr deutlich sind, es findet Ausscheidung des Chlorophyllans an der Oberfläche statt oder Ausscheidung von kleinen Tröpfchen (Fig. 77), die jedoch mit den ursprünglichen Grana nicht identisch sind. Der Eiweisskrystall nimmt die Form einer Blase an und erstarrt allmählich.

Der Grund, weshalb die Fibrillen hier nicht mit derselben Deutlichkeit wie in anderen Fällen hervortreten, mag wohl in den durchgreifenden Veränderungen zu suchen sein, welche durch die Salzsäure hervorgebracht

wurden. Wir haben es hier mit Resten, mit Anklängen der ursprünglichen Struktur zu thun, die Behauptung dagegen, dass die plasmatische Grundlage der Chlorophyllkörper durch die Salzsäure nicht verändert wird, scheint mir widerlegt zu sein. Wenn schon schwache Salzsäure zerstörend einwirkt, um wie vieles mehr muss die starke Säure Veränderungen, besonders chemischer Natur hervorrufen. Die verdünnte Salzsäure wirkt schon zerstörend auf die Struktur, auch wenn man sie vereint mit einer 50proc. Zuckerlösung angegewendet hat, wodurch die Quellung behindert wird. Die Veränderungen in der verdünnten Säure sind also nicht blos die Folge des Aufquellens, sondern es findet wirklich eine Zerstörung der ursprünglichen Struktur durch die chemische Wirkung der Salzsäure statt.

Mein Zweck war erstens zu zeigen, dass die Pringsheim'schen Beobachtungen nicht zu der Annahme berechtigen, dass den Chlorophyllkörpern eine Schwammstruktur zukomme, zweitens wollte ich constatiren, dass die Proteinkörper des Chlorophyllkorns durch die concentrirte Salzsäure gefällt werden.

Bei der Anwendung ganz concentrirter, d. h. unverdünnter Salzsäure geht die Chlorophyllanausscheidung noch schneller vor sich, die grüne Masse wird bald braun, vorher machen sich oft noch dunklere und hellere Stellen im Chlorophyllkorn geltend, wobei die ungleichmässige Ausscheidung und Vertheilung des Chlorophyllans dabei betheiligt ist (Fig. 79 *Fittonia*, Fig. 78 *Mnium*).

Ausserdem macht sich in der hoch concentrirten Salzsäure noch die Quellung der Stärkekörner geltend, die farblosen Vacuolen gleich, ähnlich wie bei längerem Erhitzen in Wasserdampf (Fig. 81 *Vallisneria*), die übrige Substanz des Chlorophyllkörpers zurückdrängen.

Ausnahmsweise fand ich eine besondere Art von Vacuolenbildung bei *Phajus* (Taf. II. Fig. 82—87). Hier bilden sich, ausgehend von dem farblosen Theil, welcher von dem Eiweisskrystall stammt, Höhlungen, die mit Flüssigkeit erfüllt sind. Die übrige grüne Substanz verliert ihre Struktur und bleibt auf ein kleines Volumen zusammengeschrumpft (Fig. 86) in Verbindung mit der Krystallsubstanz.

Diese Art der Vacuolenbildung deutet wohl darauf hin, dass bei *Phajus* besondere Umwandlungen durch die concentrirte Salzsäure stattfinden, die einen Theil des Chlorophyllkörpers lösen und so zur Vacuolenbildung führen.

Das Resultat dieser Beobachtungen über die Einwirkung der Säuren ist: sowohl sehr verdünnte Essigsäure (0,2—1%) als sehr verdünnte Salzsäure (0,1%) wirken langsam fixirend, wobei jedoch durch die Salzsäure leicht Verquellungen eintreten, welche die ursprüngliche Struktur etwas verschieben.

Bei der Essigsäurewirkung macht sich bei geringerer Concentration ein Unterschied zwischen Chloroplastin und Metaxin geltend, welch' letzteres stärker quillt, sich bei 3—10% auch lösen kann.

Concentrirte Essigsäure bringt die Proteinsubstanzen der Chlorophyllkörper gleichmässig zur Quellung unter gleichzeitiger Lösung des Chlorophyllfarbstoffes.

Bei geringerer Concentration der Essigsäure erfolgt Vertheilung der Grana, später Umwandlung und Ausscheidung von Chlorophyllan.

1% Salzsäure bringt die Chlorophyllkörper regelmässig zum Quellen unter gleichmässiger Vertheilung, späterer Ausscheidung des Farbstoffes.

In concentrirter Salzsäure sind die Proteinsubstanzen unlöslich, die Struktur wird zerstört, der Farbstoff verändert und ausgeschieden.

§ 13. Einwirkung einzelner Metallverbindungen auf die Chlorophyllkörper.

Durch die in der Einleitung angegebene Mischung von Ferrocyankalium und Essigsäure wird das Chloroplastin und Metaxin gefällt. Man kann bei verschiedenen Pflanzen die angesäuerte Ferrocyankaliumlösung direkt zum Nachweis der Fibrillenstruktur verwenden, man bekommt dann Bilder ähnlich wie bei der Einwirkung sehr verdünnter Essigsäure allein (vergl. Taf. II. Fig. 59), ohne dass jedoch wie dort eventuell geringe Vacuolenbildung eintritt, da sich das Metaxin in Ferrocyankalium nicht löst. Um die Fibrillen sehr deutlich hervortreten zu lassen, ist es nothwendig die Chlorophyllkörper ganz kurze Zeit etwas quellen zu lassen, es genügt bei saftigem Gewebe die Zeit, während sich der Schnitt auf dem Messer in Berührung mit dem Zellsaft befindet. Sobald die Chlorophyllkörper mit der angesäuerten Ferrocyankaliumlösung zusammen kommen, werden sowohl die Fibrillen als die Zwischensubstanz fixirt, und da letztere ihr Volumen schon etwas vergrössert hatte, so treten die Fibrillen scharf und getrennt zu Tage. Der entstandene Niederschlag ist jedoch nicht vollständig unquellbar in der Ferrocyankaliumlösung, weshalb nach längerem Verweilen die Fibrillen wieder weniger deutlich werden.

Im Gegensatz zu diesem deutlichen Fibrillärwerden der Chlorophyllkörper erfolgt einfache Fällung nur mit Sichtbarmachung der Grana, wenn die Chlorophyllkörper vorher nicht mit Wasser oder Zellsaft in Berührung gekommen sind. Schneidet man z. B. die Blätter von *Plectogyne* recht trocken, so sieht man an den Chlorophyllkörpern in der Ferrocyankaliumlösung höchstens nur die Grana, feuchtet man dagegen den Blattquerschnitt an, so erhält man schöne Fibrillen. Ebenso sind bei den Chlorophyllkörpern von *Fuchsia*, welche vermöge ihres Gerbstoffgehaltes nur wenig quellen, keine deutlichen Fibrillen zu sehen.

Wesentlich für uns ist, dass die Proteinstoffe der Chlorophyllkörper in Ferrocyankalium und Essigsäure unlöslich sind.

Eine unerlässliche Bedingung der Fällung ist der Gehalt an Essigsäure,

da Ferrocyankalium allein langsames Aufquellen der Chlorophyllkörper bewirkt. Dabei macht sich wie in der Kochsalzlösung eine etwas stärkere Quellbarkeit an der Zwischensubstanz geltend. Das Resultat der Einwirkung einer Ferrocyankaliumlösung von 10% ist, dass zuerst noch Fibrillen sichtbar sind, dann aber die Chlorophyllkörper gleichmässig trübe aufquellen, ohne dass eine Struktur an ihnen wahrzunehmen wäre. Lösung erfolgt niemals. Ebenso unterbleibt Vacuolenbildung.

In einer ziemlich concentrirten Lösung von schwefelsaurem Kupfer sind die Proteinstoffe der Chlorophyllkörper vollständig unlöslich. Hierbei werden keine Fibrillen deutlich gemacht, die Chlorophyllkörper behalten vielmehr ihr normales Aussehen, sind z. B. bei jungen *Fuchsia*blättern hellglänzend, während bei *Fittonia* die Grana deutlich hervortreten und bei *Plectogyne* Andeutungen der Fibrillen zu sehen sind. Bei den durch Druck verletzten Gebilden ist die ursprüngliche Struktur meist noch undeutlicher, aber es lösen sich niemals die Fibrillen heraus.

Lässt man Chlorophyllkörper lange Zeit in dem schwefelsauren Kupfer liegen, so kann Ausscheidung von öligen Tropfen beobachtet werden, welche den sog. Hypochlorinkugeln ähnlich sind.

Die beiden folgenden Substanzen, das doppeltchromsaure Kali und das *Ferrum dialysatum solubile* bewirken keine Fällung, die Chlorophyllkörper quellen vielmehr langsam auf, sie werden schliesslich gleichmässig trübe, nachdem Grana und Fibrillen verschwunden sind. Lösung von Stoffen, auch partielle Lösung unterbleibt.

§ 14. Einwirkung von Verdauungsfermenten auf die Chlorophyllkörper.

Die Verdaubarkeit der Chlorophyllkörper in Pepsin-Salzsäure wurde schon von E. Zacharias[1]) untersucht. Derselbe kam zu dem Resultat, dass die Chlorophyllkörper nur theilweise verdaut werden, dass der verdaubare Stoff aber an Menge der unverdaubaren Substanz nachsteht.

Zacharias behandelte frische Schnitte durch Blätter von *Sambucus nigra* mit künstlichem Magensaft, sodann mit Alkohol, darauf zur Zerstörung der Stärkeeinschlüsse mit siedendem Wasser und färbte schliesslich die Residua mit einer Lösung von Jod in Jodkalium. Im Vergleich zu den nicht mit Magensaft, sonst aber gleich behandelten Chlorophyllkörnern erschienen die von der Verdauung herrührenden Chlorophyllkornreste substanzarm und klein, woraus Zacharias mit Recht auf das Vorhandensein einer im Magensaft löslichen Substanz schliesst.

Die hier angewendete Methode ist nicht vollständig einwurfsfrei, wenn ich auch das erhaltene Resultat nicht bestreiten will, welches mit meinen auf

[1]) E. Zacharias, Ueber Eiweiss, Nuclein und Plastin. Bot. Zeitung. 1883. p. 213.

anderem Wege erhaltenen Ergebnissen übereinstimmt. Bei der längeren Behandlung mit der schwach salzsauren Pepsinlösung konnte durch die Salzsäurewirkung allein, ohne dass das Pepsin mitwirkt, Lösung stattfinden. Zacharias gibt bei der Untersuchung der Chlorophyllkörper nicht an, wieviel Säure sein Verdauungssaft enthalten hat. Es ist aber wahrscheinlich, dass er mit demselben künstlichen Magensaft operirte, den er bei einer anderen Untersuchung (Bot. Zeitung 1881 p. 170) anwendete und der 0,015% Salzsäure enthielt. Eine derartige Säure wirkt nicht fixirend (vgl. § 12 dieser Abhandlung), es können also sehr wohl Stoffe zersetzt und extrahirt werden, wobei namentlich an die löslichere Zwischensubstanz zu denken ist, ohne dass dieselben erst durch das Pepsin löslich gemacht worden wären.

Da die Fällung mit Alkohol unter Vermeidung einer zu lange dauernden Berührung mit dem Alkohol die Verdaubarkeit der Eiweisssubstanzen nicht beeinträchtigt (vgl. Kühne), wohl aber das Hinweglösen von Eiweissstoffen durch Wasser und auch sehr verdünnte Säure verhindert, ist es mir nicht verständlich, warum Zacharias die Chlorophyllkörper in frischem Zustande verdaut hat, während bei mit Alkohol fixirten Gebilden alle überflüssigen Quellungserscheinungen wegfallen.

Um die bei der Pepsinverdauung nothwendige Säurewirkung zu vermeiden, zog ich es vor, die Chlorophyllkörper der Trypsinverdauung, d. h. dem Pancreasfermente zu unterwerfen. Trypsin ist sowohl in neutraler als in schwach alkalischer, ja auch in sehr schwach saurer Lösung wirksam, seine Verdauungsfähigkeit übertrifft, was die Geschwindigkeit der Umwandlung anbelangt, entschieden das Pepsin und wenn auch wahrscheinlich andere Uebergangsglieder von den Eiweisskörpern zu dem Pepton entstehen, so ist dies kein Umstand, welcher uns von dem Gebrauch des schneller wirkenden Trypsins abhalten kann.

Die Bereitung der trypsinhaltigen Verdauungsflüssigkeit habe ich bereits in der Einleitung angegeben. Ich liess dieselbe auf die Chlorophyllkörper wirken, nachdem die letzteren vorher mit Alkohol fixirt und entfärbt waren, ich vermied es dabei, zu lange in Alkohol gelegenes Material zu verwenden, da die Möglichkeit nicht ausgeschlossen war, dass die Stoffe des Chlorophyllkörpers mit der Zeit etwas von ihrer Verdaubarkeit eingebüsst hätten. Es genügt schon kurze Behandlung mit absolutem Alkohol, um Veränderungen durch Wasser, oder wie ich mich noch besonders überzeugte, durch die Salicylsäure von 1‰ hintanzuhalten.

Es stellte sich heraus, dass ebenso wie bei der Pepsinverdauung auch bei der Trypsinwirkung ein Theil der Chlorophyllkörper gelöst wurde, während der grössere Theil unlöslich war. Der zurückbleibende Rest zeigt entweder gar keine Struktur (*Scilla maritima*, *Hyacinthus*) oder eine ziemlich undeutliche Fibrillenstruktur, die mit der ursprünglichen nicht identisch ist. Wir sehen sie für die Chlorophyllkörper der *Phajus*knolle auf Taf. II, Fig. 88 abgebildet. Namentlich fällt es auf, dass die hierbei

erscheinenden Fibrillen breiter sind als sonst, möglicherweise sind sie durch Zusammenlegen der primären Fibrillen entstanden. So weit sich der Vorgang an meinen Präparaten verfolgen lässt, wird die Zwischensubstanz gelöst, es ist mir dies bei den übrigen Eigenschaften derselben nicht unwahrscheinlich, ist aber direkt schwer zu beobachten. Man kann jedoch auf der anderen Seite ziemliche Gewissheit über die Frage erhalten, ob die Fibrillen oder die Zwischensubstanz verdaut werden, wenn man das ursprüngliche Mengenverhältniss mit einander vergleicht. Die Menge der Fibrillensubstanz überwiegt bedeutend, und ebenso bleibt bei der Verdauung der grössere Theil des Chlorophyllkörpers zurück, es ist daher sehr wahrscheinlich, dass nur die Zwischensubstanz verdaut wird.

Die Chlorophyllkörper werden auch dann nicht weiter gelöst, wenn man sie lange Zeit, bis zu 2 Tage, in der Verdauungsflüssigkeit liegen lässt, gleichgültig, ob man bei Zimmertemperatur oder bei 40° C., wo die Verdauung noch schneller vor sich geht, operirt. Das Chlorophyllkornresiduum ist also factisch unverdaubar.

Im Verhalten gegen Farbstoffe haben die Chlorophyllkörper keine wesentliche Veränderung erfahren.

Das Resultat dieser Versuche ist demnach, dass die Chlorophyllkörper aus unverdaubaren und verdaubaren Substanzen zusammengesetzt sind. Unverdaubar ist das Chloroplastin, verdaubar das Metaxin.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen Pepsin- und Trypsinwirkung besteht nicht.

§ 15. Hinweis auf die Methoden zur Sichtbarmachung der Struktur in den Chlorophyllkörpern.

Da die Chlorophyllkörper in den unverletzten Zellen ihre Struktur nur unvollständig erkennen lassen, ist es nothwendig sie mit Reagentien zu behandeln.

Fällungs- und Fixirungsmittel verwandeln die Chlorophyllkörper in einen fibrillären Niederschlag; da derartige geformte Niederschläge jedoch auch an strukturfreien Lösungen hervorgerufen werden können, was im § 28 näher bewiesen wird, so sind jene Methoden nicht ausreichend. Handelt es sich darum, die Existenz von Fibrillen, die in einer Grundsubstanz liegen, zu beweisen, so ist die Einwirkung von Wasser mit darauffolgender Fixirung anzuwenden. Besser ist die Trennung durch verdünnte Kochsalzlösungen, da hier die Anwendung einer besonderen Fixirungsflüssigkeit vermieden wird. Die letztere Methode hat auch noch den Vortheil, dass die Grana in den Fibrillen sichtbar bleiben.

Die Fibrillen ohne Grana kann man sehr deutlich durch verdünnte Essigsäure oder angesäuerte Lösung von Ferrocyankalium, meist auch durch sehr verdünnte Salzsäure nachweisen.

Handelt es sich darum, die Existenz der Grana an Chlorophyllkörpern zu beweisen, an denen sie sonst nicht sichtbar sind, ist die Einwirkung von concentrirter Zuckerlösung oder das Einlegen in Hühnereiweiss zu empfehlen.

Bei der Pringsheim'schen Methode, durch concentrirtes Sonnenlicht die Struktur der Chlorophyllkörper sichtbar zu machen, findet ebenfalls eine Fällung und Fixirung der Chlorophyllkörper statt, wobei ausserdem noch Zerstörung des Chlorophylls stattfindet, da ich jedoch die durch Fällungsmethoden erhaltenen Bilder nicht für beweisend halte, kann ich die Richtigkeit der daraus gezogenen Schlüsse nicht anerkennen, indem die von Pringsheim angegebene Struktur mit dem übrigen Verhalten gegen Reagentien nicht übereinstimmt. Desgleichen verwerfe ich die Einwirkung concentrirter Salzsäure zur Sichtbarmachung der Struktur, da dieselbe zu energisch zersetzend wirkt.

Kapitel III.

Zellkerne.

§ 16. Die morphologische und chemische Untersuchung des Zellkerns.

In Folge der überaus zahlreichen Untersuchungen namentlich thierischer Objecte ist die morphologische Zusammensetzung der Kerne, ihre Struktur im Grossen und Ganzen genau bekannt, und nur über Detailfragen herrschen differente Ansichten. Unsere Kenntnisse der chemischen Zusammensetzung dagegen sind noch so mangelhafter Natur, dass eine allgemeinere Bearbeitung der einschlägigen Fragen erwünscht sein musste, um so mehr, als man von verschiedenen Seiten geneigt war, aus den bisherigen geringen und unvollständigen Untersuchungen weittragende Schlüsse zu ziehen. So verlor man sich z. B. in Hypothesen über die Bedeutung des einen oder des anderen Stoffes, ohne dass man die Richtigkeit der Praemissen jemals geprüft hätte.

Damit es dieser Arbeit auch nicht an heiteren Stellen fehle, citire ich aus einer Abhandlung von W. Pfitzner[1]) folgendes: „Wir haben also die Reihe: anorganische Verbindungen — einfachere organische Verbindungen — Albumine — Protoplasma — Kernstoffe — Chromatin — in der sich eine wachsende Zunahme des Moleculargewichtes kundgiebt. Schon bei dem dritten Gliede wird es uns unbekannt, doch müssen wir nach allen Ergebnissen unserer Forschungen annehmen, dass es ein ganz bedeutend hohes ist, wir sind somit berechtigt, für das Endglied dieser Reihe ein ganz „immenses“ anzunehmen“. Daraus leitet Pfitzner mit bewunderungswürdiger Verläugnung chemischer und physikalischer Thatsachen die Frage ab, „ob die von ihm beschriebenen Chromatinkugeln nicht blos histologische Elemente mit der Werthigkeit von Molekülen, sondern geradezu die wahren wirklichen Moleküle seien“! Bei näherer Untersuchung stellt sich jedoch heraus, dass gerade das Chromatin ein relativ leicht löslicher Stoff ist, dass er also, wenn wir blos von den Löslichkeitsverhältnissen ausgehen wollen, ein relativ kleineres Molekulargewicht haben muss, als die übrigen Proteinsubstanzen.

---

[1]) W. Pfitzner, Morpholog. Jahrbuch. Bd. VII. 1882. pag. 300.

Dafür, dass die Kernstoffe complicirtere Körper sind als die Substanzen des übrigen Protoplasmas, sowie für die noch weitere Complicirtheit des Chromatins fehlt jede Spur von Beweis. Die von Pfitzner angegebene Stoffreihe ist also rein willkürlich und wissenschaftlich ohne Werth.

Dies eine Beispiel zeigt uns in genügender Weise, wie nothwendig es ist, über die chemischen Verhältnisse des Protoplasmas klarere Vorstellungen zu verbreiten.

Es scheint mir fraglich, ob man allein durch die mikroskopische Betrachtung morphologischer Verhältnisse dazu gelangen kann, die physiologische Funktion eines bestimmten Elementartheiles der Zelle festzustellen. Es gilt dies speciell auch von der Bedeutung des Kernes. Da wir im Wesentlichen jedoch auf die mikroskopische Untersuchung ohne weitere Einführung von Experimenten in unsern Beobachtungsreihen angewiesen sind, müssen wir wenigstens bestrebt sein, die jetzt erreichbaren Resultate nach Kräften auszudehnen. Dies wird aber hauptsächlich dadurch möglich sein, wenn die chemischen Verhältnisse des Kerns näher berücksichtigt werden. Vielleicht gewinnen wir dann sichere Anhaltspunkte für die Bedeutung der einzelnen Strukturelemente. Doch wenn dies auch nicht gelingen sollte, so ist doch noch durch die von mir angewendete Methode die Möglichkeit gegeben, die einzelnen Strukturelemente des Kernes näher zu definiren, sowie die Kern- und Zelltheilungsfragen weiter zu führen, nachdem man mit den bisherigen Methoden so ziemlich zu Ende war.

Derartige Fragen, ob die Nucleolen nur verdickte Stellen im Kerngerüst oder besondere Körper seien, werden dadurch endgültig entschieden, dass ihre chemische Differenz genau präcisirt wird. Ebenso ist die Frage nach dem Vorhandensein einer besondern Kernmembran beantwortet, sobald ihre chemische Verschiedenheit von den Balken des Kerngerüstes mit Sicherheit constatirt ist. Es muss sich herausstellen, ob die als Nebennucleolen bezeichneten Körper wirklich den Nucleolen oder den grossen Chromatinkugeln nahe stehen.

Ausserdem erhalten wir durch die chemische Unterscheidung der einzelnen Strukturelemente die Möglichkeit zu beurtheilen, was im Kern durch Fixirungsmittel hervorgerufene Kunstproducte sind, was als ursprüngliche Anlage erscheint, indem bei einfachen Niederschlagsformen keine chemische Differenz vorhanden ist.

Werthvoll für das Verständniss der Zelle ist es, das Verhältniss zu kennen, in welchem die Stoffe des Kerns zu jenen des Protoplasmas stehen. Ist der Kern nur verdichtete protoplasmatische Substanz oder zeigt er wesentlich andere Reactionen, sind die im Kern sichtbaren Microsomen identisch mit den körnigen Gebilden des Cytoplasmas, kommen überhaupt im Kern und dem übrigen Protoplasma einzelne identische Stoffe vor oder nicht?

Auch ohne dass ich diese Fragen weiter ausmale, wird jeder Biologe die Wichtigkeit derselben zugeben müssen.

Meine bisherigen Untersuchungen beschränken sich auf die sogenannten ruhenden, besser gesagt auf die sich nicht theilenden Kerne, doch hoffe ich später meine Untersuchungen auch auf Theilungszustände ausdehnen zu können. Alle bis jetzt unterschiedenen Strukturelemente konnte ich als chemisch different nachweisen. Allerdings unterscheiden sich die einzelnen Strukturelemente des Kerns nicht alle in gleichem Maasse von einander, so dass eigentlich nur drei verschiedene Proteinstoffarten im Kerne nachzuweisen sind, wovon zwei Proteinstoffarten in je zwei Modificationen vorkommen, die sich sehr nahe stehen.

Ich unterscheide folgende Stoffe: Erstens das von der Kernfigur abstammende Chromatin, durch seine grosse Tinctionsfähigkeit in der Zelle leicht nachzuweisen. Es kommt im ruhenden Pflanzenkern in grösseren und kleineren Kugeln und Körnchen vor, die der farblosen Gerüstsubstanz, den Kernfäden eingelagert sind. Es ist identisch mit den Nucleomicrosomen Strasburgers.

Zweitens das Pyrenin und Amphipyrenin, die beiden Stoffe, welche die Kernkörperchen und die Kernmembran bilden. Diese beiden Stoffe stimmen in fast allen Reactionen überein, sie unterscheiden sich jedoch durch ihre Tingirbarkeit, indem das Pyrenin der Kernkörperchen Farbstoffe fast immer sehr leicht aufnimmt und festhält, während das Amphipyrenin nur wenig oder gar nicht tingirt wird. Beide Stoffe zeigen häufig dem Chromatin gerade entgegengesetzte Reactionen.

Drittens das Linin und Paralinin, die Stoffe der Kernfäden und der dazwischen befindlichen Grundsubstanz. Die Kernfäden oder Kernfibrillen bilden das achromatische Kerngerüst, welches das Chromatin enthält und den fädig-fibrillären Aufbau des Kerns bedingt. Strasburger bezeichnet es als Nucleohyaloplasma, Pfitzner als Parachromatin. Ob es mit den Spindelfasern der Kerntheilungsfiguren in Verbindung zu bringen ist, vermochte ich nicht zu entscheiden, es wird dies erst durch die Untersuchung von Kerntheilungsstadien möglich sein.

Die Grundsubstanz des Kerns, von Flemming früher als Zwischensubstanz, später nach dem Vorgange von R. Hertwig als Kernsaft bezeichnet, füllt die Zwischenräume des Fibrillengerüstes aus, zeigt sich sehr wenig tingirbar und wurde deshalb auch Achromatin genannt. An Kernen, bei welchen die Fibrillen relativ sehr zurücktreten, auch wohl nur stärkere Fäden in einer homogenen Grundmasse zeigen, ist die Annahme einer solchen besonderen Grundsubstanz wenigstens vom morphologischen Standpunkte aus zu rechtfertigen. Wo jedoch die Fibrillen das ganze Volumen des Kerns ausfüllen, stösst diese Annahme schon auf Schwierigkeiten, da hier die Grundsubstanz, was ihre Menge anbelangt, sehr zurücktritt. Nach meinen Erfahrungen über die chemische Beschaffenheit beider Stoffe kann ich sagen, dass beide sich sehr nahe stehen und die Differenzen im Verhalten gegen die einzelnen Reagentien nur sehr gering sind, wodurch eine genaue Trennung und Scheidung beider sehr erschwert wird. Ja sogar die in erster Linie unter-

scheidende Reaction zwischen Gerüst und Zwischensubstanz, das Verhalten gegen Pepsinverdauung ist nicht ganz einwandsfrei. Ich muss es daher als möglich bezeichnen, dass weitere Untersuchungen die Identität von Gerüst und Zwischensubstanz nachweisen können, in welchem Falle die Unterscheidung von Linin und Paralinin fallen zu lassen wäre, resp. der Ausdruck Paralinin zu beseitigen wäre. Da mir jedoch einige stoffliche Differenzen vorhanden zu sein scheinen, will ich den Versuch machen, die morphologisch unterschiedenen Strukturelemente auch chemisch zu trennen. Weitere Untersuchungen werden zu zeigen haben, ob eine solche Trennung gerechtfertigt war oder nicht.

Jedenfalls ist es sicher, dass bei der Aehnlichkeit der Eigenschaften von Grundsubstanz und Fibrillen die erstere nicht als eine Flüssigkeit aufgefasst werden darf und die Bezeichnung als Kernsaft nicht gerechtfertigt ist. Ebenso wenig scheint mir der Ausdruck Achromatin gerechtfertigt zu sein, da die Grundsubstanz sich sehr wohl tingiren lässt, wenn sie auch den Farbstoff nicht in demselben Maasse festzuhalten vermag, wie Chromatin und die Substanz der Kernkörperchen.

Ist nun auch die Grundsubstanz keine Flüssigkeit oder Lösung, so ist damit doch noch keineswegs ausgeschlossen, dass von den Proteinstoffen des Kerns gelöste Substanzen imbibirt sind. Diese den Molekülen der einzelnen Strukturelemente zwischengelagerten Substanzen können sich durch analoge Entmischungsvorgänge, wie wir sie bei dem Cytoplasma antreffen, bei herauspräparirten Kernen in Vacuolen ansammeln und so eine der übrigen Kernsubstanz gegenüberzustellende Flüssigkeit bilden, die man dann mit Recht als Kernsaft (*Karyochylem*) zu bezeichnen hätte. Diese Unterscheidung scheint mir jedoch durch die bisher gegebenen Thatsachen nicht gerechtfertigt.

E. Zacharias nimmt an, dass der Kern aus dreierlei Stoffen bestünde, dem Nuclein, dem Plastin und aus Eiweiss. Die ersten beiden Substanzen bleiben bei der Behandlung mit Pepsin in saurer Lösung erhalten, während die Eiweissstoffe verdaut werden. Das Nuclein soll hauptsächlich im Chromatin enthalten sein, das Plastin in der Grundsubstanz, d. h. im Gerüst und der dazwischen befindlichen Substanz, welche Zacharias nicht näher unterscheidet. Das Kernkörperchen besteht zum grössten Theil aus Eiweiss, ausserdem noch aus Plastin. Das Eiweiss durchtränkt ferner alle Kernsubstanzen und wird aus denselben bei der Verdauung hinweggelöst.

Gegen diese Auffassung mache ich in erster Linie geltend, dass als Plastin zugleich die Proteinsubstanz des Cytoplasmas bezeichnet wird, dieselbe stimmt aber ganz und gar nicht mit der Gerüst- oder Grundsubstanz des Kerns überein, was man nach der gleichartigen Bezeichnung zu glauben veranlasst wird. Will man nicht zwei heterogene Stoffe mit demselben Namen bezeichnen, so muss man den Namen Plastin aus der Reihe der Kernstoffe streichen, da ein dem Plastin des Cytoplasmas identischer Stoff im Kern nicht vorkommt.

Ferner, da sowohl das Linin als das Chromatin in Pepsin unverdaubar

sind, und im übrigen die Identität mit den chemisch dargestellten Nucleinen nicht erwiesen ist, Linin und Chromatin sich ausserdem durch verschiedene Reactionen gut unterscheiden lassen, ist es nicht gerechtfertigt anzunehmen, dass das eine oder das andere Strukturelement aus Nuclein besteht. Ich habe daher die Bezeichnung durch neue Namen, welche ich den morphologischen Verhältnissen anpasste, vorgezogen.

Auch die Ansicht über die Vertheilung des Eiweisses in dem Zellkern kann ich nicht billigen. Die einzelnen Strukturelemente gewinnen ihre Bedeutung erst dadurch, dass sie chemisch differente Stoffe sind, ein bestimmter Proteinstoff kann aber entweder verdaubar sein oder nicht und dementsprechend wird er in die eine oder andere Kategorie der Proteinstoffe zu stellen sein. Wären dagegen die einzelnen Strukturelemente, wie Zacharias es will, aus zwei verschiedenen Stoffen zusammengesetzt, aus verdaubarer und nicht verdaubarer Substanz, so musste sich eine derartige Zusammensetzung auch bei der Behandlung mit anderen Reagentien kundgeben; dies ist aber nicht der Fall, sondern verdaubare und nicht verdaubare Körper kommen getrennt, als differente Strukturelemente im Kerne vor.

Wir werden Gelegenheit haben auf die Angaben von Zacharias sowohl in diesem Kapitel, als im fünften Kapitel (§ 36) beim Vergleich der in den Pflanzen gefundenen Proteinstoffe zurückzukommen.

§ 17. Die Beschaffenheit des Zellkerns unter verschiedenen Bedingungen.

Zur richtigen Beurtheilung der Reagentienwirkung ist es nothwendig, bei der vorliegenden Untersuchung auch die Veränderungen zu berücksichtigen, welche die Kerne in der lebenden Zelle ohne Behandlung mit Reagentien erleiden. Es sei mir daher gestattet, hier in Kürze die Beschaffenheit der Kerne zu erörtern, wie sie sich uns in verschiedenen Altersstufen, sowie bei differentem Ernährungszustande darbietet, wodurch wir zu gleicher Zeit ein Urtheil über die Bedeutung der einzelnen Kernstoffe anbahnen.

Was die Form und die äussere Gestalt des Zellkernes anbelangt, so schwankt dieselbe sehr bedeutend nach dem Alter der Zellen, wie dies schon von Schmitz[1]), Johow[2]) und mir[3]) hervorgehoben worden ist.

Während in jungen Pflanzentheilen am Vegetationspunkt und in dessen Nähe die Zellkerne von der Kugelform nur wenig abweichen, entweder

---

1) Schmitz, Sitzungsberichte der niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde in Bonn. 13. Juli 1880. pag. 33 des Separatabdruckes.

2) F. Johow, Untersuchungen über die Zellkerne in den Secretbehältern und Parenchymzellen der höheren Monocotylen. Dissertation 1880, p. 25, 26, 35.

3) F. Schwarz, Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des pflanzlichen Zellkerns nach der Theilung, in Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen. 1884. Bd. IV. Heft I. pag. 81.

Kugeln selbst sind oder Ellipsoide, deren Achsen in der Länge nur wenig von einander differiren, werden die Kerne in älteren Zellen immer mehr und mehr flach, bis sie schliesslich in dem protoplasmatischen Wandbelag der Zelle ausgebreitet, der Zellwand angedrückt weiter leben. Dabei behalten sie entweder runde Linsenform oder sie werden an zwei entgegengesetzten Seiten zu Spitzen ausgezogen. Wir sehen, dass sich der Kern namentlich in der Längsachse des Pflanzentheils streckt, während die Breite in den einzelnen Stadien nur wenig differirt. Die Kerndicke dagegen nimmt mit dem Alter bedeutend ab. In meiner oben citirten Schrift finden sich für diese Dimensionsänderungen auch Zahlenbelege. Diese Formveränderungen sind theilweise durch die Gestalt der Zellen bedingt, so in langgestreckten, sehr schmalen oder englumigen Zellen, doch auch ohne diese äussere Beschränkung erhalten die älteren Zellkerne unregelmässige Spitzen, Auszackungen und Biegungen.

Aus diesen Formveränderungen geht hervor, dass der Aggregatzustand der Kerne in der Jugend ein etwas anderer ist als im Alter. Während sie zunächst das Bestreben haben, sich wie eine Flüssigkeit abzurunden, sind sie im Alter starr genug, um ihre spitzigen Formen beizubehalten.

Haben wir sehr alte Zellen vor uns, so kann die Einbuchtung der Zellkerne so weit gehen, dass sich Kernpartien abschnüren und von einander trennen. Wir erhalten dann wulstige, mehr rundliche Formen, die schliesslich zur Kernfragmentation führen.

Gleichzeitig mit diesen Formveränderungen erleidet das Aussehen und die Tinctionsfähigkeit der Kerne wesentliche Veränderungen.

Ich meine hier speciell das Aussehen der Kerne in unfixirten, lebenden Zellen. Im Jugendzustande besitzen die Kerne ein hellglänzendes Aussehen, sie sind stark lichtbrechend und zeigen in der lebenden Zelle keinerlei Strukturen, ausgenommen hiervon sind natürlich die in Theilung begriffenen Kerne, da man die Theilungsfigur auch schon in unfixirtem Zustande erkennen kann. Selbstverständlich fehlen jenen hellglänzenden Kernen die Strukturen keineswegs, sie sind nur aus irgend einem Grunde uns nicht sichtbar. Ich glaube, dass die Ursache des stark lichtbrechenden Aussehens in dem Quellungszustande der Kernsubstanzen zu suchen ist. Die Kernsubstanzen erweisen sich in den jüngsten Theilen bei Reagentienwirkung immer als etwas stärker quellbar oder löslich, und diese Eigenschaften müssen sich auch in der unverletzten Zelle geltend machen. Von Einfluss auf den Quellungszustand und das Aussehen mag auch der grössere Gehalt an Kalisalzen sein. Ausserdem kommt in den jüngsten Pflanzentheilen ein Eiweissstoff gleichmässig in dem Protoplasma und dem Zellsafte vor, welcher auch den Kern durchtränkt. Es ist dies der schon von Sachs nachgewiesene Proteinstoff, welcher sich mit schwefelsaurem Kupfer und Kalilauge violett färbt. Eine solche Eiweisslösung kann gerade so wie das Oel, welches fixirte, aber ungefärbte Kerne durchdringt, einen Theil der Struktur unsichtbar machen.

Fixirt man die jugendlichen Kerne, so tritt das engmaschige Kerngerüst zu Tage. Die Masse der Fibrillen ist im Vergleich zur Grundsubstanz sehr gross, das Kerngerüst bildet ein dichtes Netz, das für den weniger geübten Beobachter das Aussehen eines Körnchenhaufens hat, indem die Knoten des Kerngerüstes meist besser hervortreten als die übrige Substanz. Wie wir an dem Kerne aus der Wurzelspitze von *Hyacinthus* (Taf. III, Fig. 114) sehen, ist das Chromatin im ganzen Fibrillengerüst gleichmässig vertheilt, es erfüllt in grosser Menge den ganzen Kern, ohne dass besondere kugelförmige Ansammlungen zu beobachten wären. Dies ist jedoch nicht immer der Fall, indem bei bestimmten Pflanzen neben dem im Gerüste gleichförmig vertheilten Chromatin eine geringe Anzahl grösserer Kugeln vorkommen kann, welche in ihren sämmtlichen Eigenschaften mit dem Chromatin, nicht aber mit den Nucleolen identisch sind. Als Beispiel führe ich die jungen Kerne aus dem Keimlingsstengel von *Vicia faba* (Taf. III, Fig. 94) an. Ein ganz ähnliches Aussehen bieten die Kerne aus der Wurzelspitze derselben Pflanze. Hier konnte ich genau verfolgen, wie aus dem ursprünglich gleichmässig gefärbten Kernfaden der soeben getheilten Kerne (Taf. III, Fig. 92) zunächst ein weitmaschiges Gerüst hervorging mit getrennten Körnchen (Fig. 93). Indem diese Chromatinkörnchen noch weiter zerfallen und der Kernfaden zugleich Anastomosen bildet, entsteht ein Bild, das dem ruhenden Kerne schon sehr nahe steht. Die kleinen Chromatinkörnchen können sich vollständig gleichmässig in der Gerüstsubstanz vertheilen, meistens bleiben jedoch einige grössere Chromatinpartien erhalten, es entstehen durch Zusammenfliessen grössere Chromatinkugeln, die dann dem Gerüst eingelagert sind (Fig. 94, 98, 105). Ich glaube, dass bei vielen Untersuchungen Verwechselungen dieser Chromatinkugeln mit Nucleolen untergelaufen sind, da dieselben in der Grösse nur wenig, in der Tingirbarkeit von den Nucleolen fast gar nicht abweichen. Diese grösseren Chromatinkugeln sind nicht etwa Kunstprodukte, denn man kann sie, besonders bei etwas älteren Zellen, auch am lebenden Object beobachten.

Durch Messungen an verschieden alten Kernen habe ich gezeigt, dass die Kerne nach der Theilung anfangs sehr bedeutend an Volumen zunehmen. Diese Volumzunahme ist nicht durch die Vermehrung des Chromatins bedingt, dessen Menge, soviel man bei der verschiedenartigen Vertheilung beurtheilen kann, anfangs unverändert bleibt, später jedoch entschieden abnimmt. Dagegen vermehrt sich die Gerüst- und Zwischensubstanz nach der Theilung sehr bedeutend.

Die Substanz des Kernkörperchens nimmt nach meinen Messungen in den Jugendstadien der Kerne bedeutend zu, die Grösse derselben geht jedoch schon herab, so lange das Kernvolumen noch steigt. In den weitaus meisten Fällen liegt das Maximum des Nucleolusvolumens vor der Zone, in welcher der Kern sein Maximum erreicht, und in vielen Fällen tritt gerade dann die bedeutendste Verkleinerung des Nucleolusvolumens ein, wenn der Kern sein Volumen am stärksten vergrössert. Es scheint mir demnach wahr-

scheinlich, dass ein Theil der Kernkörperchensubstanz direkt bei der Neubildung der übrigen Kernsubstanz verbraucht wird. Das Nähere hierüber findet sich in meiner oben citirten Arbeit.

Im Gegensatz zu diesen jugendlichen Kernen stehen die Kerne der ausgewachsenen Zellen. Im unfixirten Zustande sehen sie nicht mehr homogen, glänzend aus, sie lassen vielmehr schon in der lebenden Zelle einzelne Strukturelemente erkennen. Ist das Fibrillennetz dicht, so erscheint der ganze Kern meist körnig oder punktirt, ist das Fibrillennetz dagegen weniger dicht, so erkennen wir bei günstigen Objecten auch die einzelnen Fibrillen und die grösseren Chromatinkugeln. Derartige Objecte eignen sich besonders zum Studium der chemischen Eigenschaften der Kerne, da wir nicht immer erst zu färben brauchen, um zu erkennen, ob bestimmte Strukturelemente in einem Reagens gelöst sind oder nicht. Bemerkenswerth ist ferner noch, dass die Nucleolen bald hinter dem Vegetationspunkt sichtbar werden. Es deutet dies darauf hin, dass jene Substanzen, welche dem Kern das hellglänzende Aussehen verliehen haben, schon relativ bald verschwinden, wodurch der Kern durchsichtiger gemacht wird. Dabei ist jedoch nicht zu vergessen, dass in sehr alten Zellen der Nucleolus oft nur ein sehr geringes Volumen hat und deshalb im ungefärbten Kerne leicht übersehen werden kann.

Die von Johow (l. c. p. 12) angegebene Thatsache, dass die Zellkerne älterer Raphidenschläuche von *Tradescantia virginica* vacuolig oder schaumig werden, konnte ich niemals, auch nicht an sehr alten Zellen beobachten. Ich muss daher glauben, dass derartige Bilder erst durch die von Johow angewendete Maceration mit Kalilauge entstanden sind.

In sehr alten Zellen, namentlich in Geweben, deren Plasma dem Absterben geweiht ist, z. B. in Korkzellen, alten Holzgefässen etc. werden die Kerne vollständig strukturlos, sie bilden eine meist dunkel gefärbte, homogene oder undeutlich körnige Masse. Wie schon Strasburger[1]) erwähnt, verschwindet vom Protoplasma der Kern zuletzt, er schrumpft zu einem kleinen glänzenden Gebilde zusammen, nimmt hin und wieder gelappte Formen an und zerfällt schliesslich in einzelne Körnchen.

Zum genaueren Studium der Strukturen reicht frisches, unverändertes Material nicht aus, wir müssen unsere Objecte fixiren und färben, und wo auch dies nicht ausreicht, ist meine Methode der partiellen Lösung anzuwenden, wodurch erst die sichere Entscheidung zwischen den einzelnen Stoffen und Strukturelementen möglich wird.

Immerhin war es in vielen Fällen nothwendig, durch Färbungen die gewonnenen Resultate zu controlliren, namentlich muss man bei der Untersuchung über das Vorkommen des Chromatins darauf sehen, eine reine Chromatinfärbung zu erhalten. Wir dürfen nicht im Allgemeinen von der Tingirbarkeit des Kernes sprechen, denn auch die übrige Kernsubstanz speichert bis zu einem gewissen Grade Farbstoffe auf, sondern müssen den

[1]) Ueber den Bau und das Wachsthum der Zellhäute. 1882. p. 51 u. 83.

Begriff Chromatin auf die von der Kernfigur abstammende, durch bestimmte chemische Eigenschaften ausgezeichnete, färbbare Substanz beschränken.

Zum Nachweis des Chromatins bediente ich mich der von Gram angegebenen Methode, welche vorzügliche Bilder liefert. Da dieselbe in der Botanik bisher keine Verwendung gefunden hat und weitere Verbreitung verdient, sei es mir gestattet, dieselbe hier anzuführen.

Die durch circa 24stündiges Liegen in Flemming'scher Lösung fixirten Schnitte wurden mindestens ebensolange unter mehrmaliger Erneuerung mit Wasser ausgewaschen, eventuell noch mit Alkohol etwas nachgehärtet. Sie kommen sodann in die Färbeflüssigkeit, welche man sich aus 3 gr Anilinöl, 1 gr Gentianaviolett, 15 gr Alkohol abs. unter einem Zusatz von 100 gr destillirtem Wasser bereitet hat. Nachdem die Schnitte in derselben 3 bis 5 Minuten verweilt, werden sie einige Secunden in Alkohol absol. abgespült, um die nachfolgende Entfärbung abzukürzen und sodann in eine Jodlösung (1 Th. Jod, 2 Th. Jodkalium, 300 Th. Wasser) eingetragen. Schliesslich werden sie mit Alkohol so lange entfärbt (es dauert dies circa 8 bis 10 Minuten), bis die Schnitte ein schwach blaues Aussehen haben, mit Nelkenöl aufgehellt und in Canadabalsam eingeschlossen.

Dieselbe Methode wurde schon früher von Fr. Nissen[1]) bei thierischen Kernen mit bestem Erfolge angewendet.

Nach diesem Excurs über die Methode kehre ich zur Beschreibung der Beschaffenheit des Kerns in älteren ausgewachsenen Zellen zurück.

Man kann sich leicht davon überzeugen, wie das Volumen des Kerns mit dem Alter der Zellen abnimmt, nachdem der Kern in einer gewissen Entfernung vom Vegetationspunkt seine Maximalgrösse erreicht hatte. Es frägt sich nun, sind bei dieser Reduction der Kernsubstanz alle Strukturelemente gleichmässig betheiligt, können bestimmte Substanzen vollständig verschwinden, oder ist die Abnahme von Kernsubstanzen mehr eine ungleichmässige. Es ist dies nothwendig zu wissen, da bestimmte von uns angegebene Reactionen eventuell ausbleiben können, wenn ein oder das andere Strukturelement in zu geringer Menge vorhanden ist.

Das wesentlichste Ergebniss der in dieser Richtung durchgeführten Beobachtungen ist, dass die einzelnen Proteinstoffe wohl in dem Kerne abnehmen, der eine Stoff etwas mehr, der andere weniger; aber niemals verschwindet, so lange die Zelle lebensfähig ist, ein Strukturelement vollständig aus dem Kern. Die von mir unterschiedenen Stoffe resp. Strukturelemente sind demnach keine metaplastischen Substanzen, sondern sie bilden gewissermaassen den constitutionellen Theil des Kerns.

Für die Abnahme der Gerüstsubstanz haben wir zwei, je nach der Pflanzenart verschiedene Formen. Erstens die Zahl der Fibrillen bleibt erhalten, aber sie werden bedeutend substanzärmer, sie weichen nur sehr wenig auseinander, bilden also auch noch im alten Kern ein dichtes Geflecht,

---

[1]) Archiv f. mikroskop. Anatomie. Bd. 26. p. 339.

ihre Contouren treten jedoch nicht mehr so scharf hervor wie im jungen Kern, die Chromatinmenge in der Gerüstsubstanz hat bedeutend abgenommen, die Kerne sind also weniger tingirbar. Als Beispiel führe ich die Kerne aus einer Hyacinthenwurzel an; Taf. III, Fig. 114 stellt einen Kern vom Vegetationspunkt dar, er zeigt ein dichtes Gerüst, während der Kern aus dem Basaltheil der Wurzel, Fig. 115, alle die besprochenen Veränderungen seines Alterszustandes aufweist.

Zweitens, die Zahl der Fibrillen vermindert sich, sie füllen nicht mehr den ganzen Kernraum aus, sondern bilden nur mehr einzelne Stränge, in denen dann die Chromatinkörper liegen. Ein noch verhältnissmässig dichteres Gerüst sehen wir z. B. bei den Kernen aus dem Blatte von *Scilla maritima* (Taf. III., Fig. 99). Eine weitergehende Reduction finden wir z. B. bei den Kernen der *Phajus*knollen (Taf. III., Fig. 105, 109, 110), wo die Fibrillen im Vergleich zur Grundsubstanz sehr zurücktreten, ebenso bei den Kernen aus dem Blatte von *Cymbidium aloefolium* (Fig. 98), oder aus dem Stengel von *Impatiens parviflora* (Fig. 102 und 103).

Bei dieser Reduction der Fibrillensubstanz ist das Chromatin nicht mehr gleichmässig in den Fibrillen vertheilt, es sammelt sich in Form von grösseren Kugeln und rundlichen Körpern an einzelnen Stellen des Gerüstes an (Taf. III, Fig. 98, 105, 109).

Bei der Bedeutung, welche in neuerer Zeit allgemein dem Chromatin zugeschrieben wird, möchte ich noch etwas näher auf dessen Vertheilung in der Pflanze eingehen.

Das Chromatin findet sich überall dort am reichlichsten vor, wo es sich um die Neubildung von Protoplasma handelt, also an allen jenen Theilen, wo Neubildung von Zellen stattfindet. Sind die Zellen ausgewachsen, so nimmt die Menge desselben bis zu einem gewissen Grade ab, ohne dass es jedoch jemals vollständig aus dem Kerne entfernt wird. Wie weit und wie schnell die Reduction des Chromatins vor sich geht, hängt in erster Linie von der Pflanzenart ab, während der Einfluss äusserer Umstände nicht klar zu definiren ist. Die Abnahme ist aber nicht abhängig von dem Ernährungszustande und der Menge des Inhalts der Zellen. So verschwinden z. B. in den Kernen aus dem Hypocotyl von *Lupinus luteus* (Taf. III. Fig. 97) die kleinen Chromatinkörnchen schon unmittelbar hinter dem Vegetationspunkte, es bleiben nur die etwas grösseren Chromatinkörper zurück, obgleich die Zellen sonst sehr inhaltsreich waren. Etwas ähnliches war bei der Keimlingswurzel von *Pisum sativum,* bei dem Hypocotyl von *Helianthus annuus* und *Linum usitatissimum* zu beobachten.

Besonders machte sich dann eine weitergehende Abnahme in der Quantität des Chromatins geltend, wenn die betreffenden Pflanzen sich unter ungünstigen äusseren Bedingungen befanden, speciell wenn sie langsam wuchsen, während bei kräftigem, raschen Wachsthum die Chromatinmenge eine grössere war.

Bei anderen Pflanzen, z. B. bei *Vicia sativa* oder *Vicia faba, Pha-*

seolus multiflorus, Cymbidium aloefolium, Phajus grandifolius nimmt die Chromatinmenge viel weniger ab, es bleiben auch noch in alten Zellen grössere Chromatinreste bestehen.

Die oben ausgesprochene Ansicht, dass die Menge des Chromatins nicht abhängig ist von dem Gehalt der Zelle an protoplasmatischer oder stickstofffreier Substanz, wird uns noch durch zwei andere Thatsachen bestätigt.

Die inhaltsreichsten Zellen sind entschieden die Reservestoffe führenden Zellen von Samen und Knollen, und gerade diese zeigen nur wenig Chromatin.

Ausserdem sind hungernde Pflanzen maassgebend, bei welchen das Chromatin nicht schneller oder in höherem Maasse abnimmt, als dies ohnehin mit dem Alter geschieht.

Bei der Untersuchung von Samen stellte sich heraus, dass alle nicht mehr wachsenden Zellen sehr kleine Kerne besassen und zugleich sehr arm an Chromatin waren. Dabei war es vollständig gleichgültig, was für Substanzen als Reservestoffe abgelagert waren. Bei den Samen von *Phaseolus multiflorus* und *Pisum sativum* sind ausser der Stärke sehr viel Proteinstoffe vorhanden, bei den Samen von *Hordeum vulgare*, ferner bei Kartoffelknollen und beim schwarzen Rettig sind die Zellen mit Stärke erfüllt; bei den Samen von *Linum usitatissimum*, *Pinus silvestris* dient Oel als Reservestoff, in allen Fällen war die Menge des Chromatins eine ganz geringe, nur in der Kleberschicht des Gerstensamens war etwas mehr Chromatin zugegen. Ausserhalb des Kerns war kein Chromatin vorhanden, die sonstigen Färbungen bei *Linum* und *Pinus* sind auf die vorhandenen Oeltropfen zurückzuführen, die in ähnlicher Weise das Methylviolett festhalten wie das Chromatin, die sich jedoch durch Benzin leicht entfernen lassen.

Im Gegensatz zu diesen Reservestoffzellen, die bei der Keimung nur wenig oder gar nicht wachsen, enthalten die Zellen des sich später vergrössernden Embryos grosse chromatinreiche Kerne. Dieser Reichthum an Kernsubstanz ist so auffallend, dass die Erscheinung nothwendig mit der Funktion dieser wachsenden Zellen zusammenhängen muss, der Ernährungszustand der ganzen Zelle dagegen ist nicht maassgebend.

Was die Hungerzustände der Pflanzen anbelangt, so liegt eine Angabe von Brass[1]) vor, nach welcher das Chromatin in hungernden Zellen vollständig verschwinden könne, während bei guter Ernährung die Kerne chromatinreich würden. Diese von Brass hauptsächlich an Infusorien gefundenen Thatsachen lassen sich bei den Kernen höherer Pflanzen nicht bestätigen. Bei den meisten Pflanzen nimmt, wie ich gezeigt habe, die Menge des Chromatins bald unter dem Vegetationspunkte ab, es bleibt jedoch eine je nach der Pflanzenart bestimmte Quantität zurück, diese Quantität wird aber auch bei hungernden Zellen nicht weiter reducirt. Ich liess Samen von *Phaseolus multiflorus* im Dunkeln keimen und die Pflanzen 4 Monate lang im Dunkeln stehen. Trotz dieser langen Hungersnoth ist

---

[1]) Zoologischer Anzeiger. VI. Jahrgang 1883. No. 156. p. 682.

das Chromatin nicht vollständig verschwunden, obgleich der übrige Zellinhalt besonders in den basalen Theilen des Stengels ganz ausserordentlich reducirt war. Wir finden Kerne (Taf. III, Fig. 104b), worin nur noch sehr kleine Chromatinkörnchen vorhanden sind, aber auch Kerne (Fig. 104a), wo noch ebenso viel Chromatin nachzuweisen ist, als im jungen inhaltsreichen Keimlingsstengel unterhalb des Vegetationspunktes.

Um das Aushungern zu beschleunigen, entfernte ich bei den im Dunkeln wachsenden Keimlingen von *Pisum sativum* und *Vicia sativa* bald nach dem Hervortreten des Epicotyls die Reservestoff führenden Cotyledonen. Die Stengeltheile blieben kürzer und sehr dünn. Ihre Zellen zeigten nach 6 Wochen nur sehr wenig Inhalt, die Kerne wiesen, was den Chromatingehalt anbelangt, jedoch keine wesentlichen Unterschiede auf, nur ihr Volumen hatte abgenommen. Wir sehen in Fig. 95 einen Kern aus dem Parenchym eines jungen Epicotyls von *Vicia sativa,* er besitzt ungefähr ebensoviel Chromatin als der Kern aus demselben Gewebe im Hungerzustande, Fig. 96. Die Befunde an Keimlingsstengeln von *Linum usitatissimum,* die 4 Wochen lang im Dunkeln gehungert hatten, und an *Helianthus*keimlingen mit abgeschnittenen Cotyledonen bestätigten die eben angeführten Thatsachen.

Zu erwähnen wären an dieser Stelle auch noch die Angaben von Johow[1]), welcher an *Nitella translucens* constatirte, dass selbst nach monatelanger Verdunkelung und nachdem die Reservestärke in allen Theilen der Pflanzen längst verbraucht war, keinerlei Abnahme der Chromatinmenge eintritt.

Aus dem Gesagten folgt, dass das Chromatin keineswegs als ein Nahrungsstoff anzusehen ist, dessen Menge sich nach dem Ernährungszustande der Zelle richtet.

Werfen wir noch einen kurzen Rückblick auf die Thatsachen, welche ich über die Reduction der einzelnen Strukturbestandtheile des Kernes angeführt habe, so geht aus denselben hervor, dass mit dem Alter der Kerne die einzelnen Bestandtheile desselben nicht vollständig gleichmässig abnehmen, dass die zu Tage tretenden Differenzen jedoch nicht so weit gehen, dass ein oder das andere Element vollständig verschwindet; die relativen Mengenverhältnisse zwischen den einzelnen Strukturelementen sind nicht constant.

§ 18. Einwirkung von Wasser auf die Zellkerne.

Im Vergleich zu dem Verhalten der Chlorophyllkörper gegen Wasser finden wir bei den aus den Zellen herauspräparirten Kernen verschiedener Pflanzen eine bei weitem grössere Mannigfaltigkeit der Reactionen, so dass es fast den Anschein haben könnte, als ob die Kerne der verschiedenen Pflanzen überhaupt keine allen gemeinsame Reactionen aufweisen würden. Wir können bei der Verletzung der Zellen und der Einwirkung von Wasser

[1]) Bot. Zeitung 1885 p. 544.

beobachten, dass die Kerne sich vollständig lösen, oder es löst sich nur ein Theil derselben, während die übrige Substanz als eine unlösliche Gallerte zurückbleibt, ferner kann der ganze Kern gleichmässig verquellen, ohne weitere Differenzen zu zeigen, oder die ganze Kernsubstanz erweist sich als vollständig unlöslich. Bevor wir auf die Ursachen dieses verschiedenen Verhaltens der Kerne gegen Wasser eingehen, ist es nothwendig, die zu beobachtenden Thatsachen näher ins Auge zu fassen.

Vollständige Lösung der Zellkerne tritt relativ selten ein und zwar beobachtete ich dieselbe nur an sehr jungen Geweben, namentlich an den Vegetationspunkten verschiedener Pflanzen, womit nicht gesagt sein soll, dass an allen Vegetationspunkten die Kerne sich bei Wasserzutritt auflösten. Löslichkeit der Kerne konnte ich an folgenden Objecten constatiren: *Pisum sativum*, Wurzelspitze und Vegetationspunkt des Epicotyls, *Vicia sativa,* Vegetationspunkt des Epicotyls, *Allium porrum,* in der Zwiebel eingehüllter Vegetationspunkt, *Solanum tuberosum,* Stengelspitzen junger, dicker Wintertriebe, *Humulus lupulus* und *Mentha piperita,* junge sowie etwas ältere Internodien, *Crocus vernus* und *Galanthus nivalis,* junge Blätter. Dabei ist zu bemerken, dass in allen Fällen die Löslichkeit abnahm, sobald die Zellen in ein älteres Stadium eingetreten waren, oft schon einige Millimeter unterhalb des Vegetationspunktes. In alten Geweben wurden niemals in Wasser vollständig lösliche Kerne beobachtet.

In allen diesen Fällen tritt die Lösung sehr bald nach dem Verletzen der Zellen ein und wird nur dann etwas verlangsamt, wenn in weniger verletzten Zellen der Kern noch von gequollenem Cytoplasma umgeben ist. Dagegen findet man niemals, dass anfangs nur gequollene Zellkerne sich später erst bei längerer Wasserwirkung auflösen.

Von der Quellung unterscheidet sich der hier besprochene Lösungsvorgang dadurch, dass man bei der Lösung durch fällende oder wasserentziehende Substanzen, wie Flemming'sche Mischung oder Alkohol, niemals wieder ein geformtes Gebilde herstellen kann, während man bei stark gequollenen Kernen hierdurch einen der ursprünglichen Kernform ähnlichen abgegrenzten Körper erhält.

Besonders möchte ich noch hervorheben, dass in den besprochenen Fällen auch der Nucleolus löslich war, da man geneigt sein könnte, die Angaben von W. Flemming und E. Zacharias zu verallgemeinern, nach welchen der Nucleolus in Wasser unlöslich sein und sich gerade dadurch von der Gerüstsubstanz unterscheiden soll. Der Nucleolus ist in älteren Zellen wohl fast immer unlöslich, obgleich man nicht behaupten kann, dass er vollständig unlöslich ist, wenigstens spricht die Vacuolenbildung bei Zutritt von Wasser dafür, dass auch in älteren Zellkernen noch eine Trennung von löslicher und unlöslicher Substanz stattfinden kann. Sehen wir von den ganz jungen Kernen ab, so bleibt doch der Nucleolus immer der am schwersten lösliche Theil des Kerns, indem wir an den etwas älteren Kernen der oben genannten Pflanzen häufig beobachten können, dass die übrige

Kernsubstanz noch löslich ist, während das Kernkörperchen schon in einen unlöslichen Zustand übergegangen ist. Immerhin bleibt die Thatsache für eine Reihe von Fällen sichergestellt, dass der Nucleolus seine Unlöslichkeit erst in einem späteren Stadium erhält.

Die zweite Kategorie der Reactionen auf Wasser bilden die Erscheinungen der Quellung und der partiellen Lösung, welche nicht immer scharf zu trennen sind.

Erstens, die ganze Kernsubstanz mit Ausnahme des Nucleolus verquillt gleichmässig, der Kern rundet sich mehr oder weniger gleichmässig ab, nimmt Wasser auf, vergrössert sein Volumen und bildet eine von der Kernmembran begrenzte klare homogene Masse, in welcher sich der wenig veränderte Nucleolus befindet. Oefter kommt es jedoch auch vor, dass der Nucleolus sich ebenfalls in der Kernmasse vertheilt und auch nach der Behandlung mit fällenden Mitteln nicht mehr sichtbar gemacht werden kann, so z. B. bei den circa 5 mm von der Wurzelspitze entfernten Kernen von *Pisum sativum*. Es ist schwer zu unterscheiden, ob die Kernsubstanz wirklich gelöst ist oder ob dieselbe nur gleichmässig gequollen ist, oder ob schliesslich gelöste und gequollene Substanz zugleich vorhanden ist. Eine Entscheidung ist schon aus dem Grunde schwer zu treffen, da wir kein bestimmtes Merkmal besitzen, welches Lösung und starke Quellung genau charakterisirt, und so werden wir denn gezwungen sein, im einzelnen Fall uns nach den zu Tage tretenden Nebenumständen zu richten.

Fassen wir jene Kerne ins Auge, welche im Jugendzustande vollständig löslich sind, so können wir beobachten, dass sie in einem etwas älteren Stadium, wie sie uns die Theile unterhalb des Vegetationspunktes darbieten, diese Löslichkeit noch beizubehalten scheinen. Die Kerne bilden, sobald sie nicht durch Zellwände oder das Deckglas beschränkt sind, eine Kugel, die Abrundung ist also vollständig, der in dem Kern befindliche Nucleolus ist verschiebbar, was uns zeigt, dass die Kernsubstanz, welche das gelöste oder sehr stark gequollene Chromatin, Linin und Paralinin enthält, kein dichtere Consistenz besitzt. Derartige Kerne behalten ihre Kugelform und mischen sich nicht mit dem umgebenden Medium vermöge der Kernmembran, die ebenso wie der Nucleolus mit dem vorgeschrittenen Alter der Kerne ihre Löslichkeit in Wasser verloren hat. Wir können daher öfter beobachten, dass die Kernmembran platzt und der Kerninhalt sich in die umgebende Flüssigkeit ergiesst.

Zweitens, und dieser Fall tritt am häufigsten ein, sehen wir, dass der Kern sich zwar abrundet, aber doch nicht vollständige Kugelform annimmt, was dafür spricht, dass der Kerninhalt mehr eine gallertartige Consistenz hat, er zeigt nicht mehr die Eigenschaft einer Flüssigkeit, Kugelform anzunehmen, und wenn er vielleicht auch mit einer Lösung durchtränkt ist, so muss doch eine andere nur gequollene Substanz dem Kern diese festere Consistenz verleihen und dies ist das Linin oder Paralinin, während das Chromatin sich viel leichter löst und vertheilt. Der Nucleolus bleibt fast immer erhalten

und ist unbeweglich in der Kernmasse eingebettet. Auch hier kann man Platzen der Kerne beobachten, die austretende Substanz mischt sich jedoch nicht mit der umgebenden Flüssigkeit. Fig. 121, Taf. IV. zeigt uns einen Kern aus dem Rindenparenchym des Epicotyls von *Pisum sativum* und zwar circa 65 mm vom Vegetationspunkt entfernt. Die innere Kernmasse ist homogen gequollen und hat die als doppeltcontourirte Hülle sichtbare Kernmembran zersprengt. Bei Zusatz von Flemming'scher Fixirungsflüssigkeit schrumpfen die Kerne augenblicklich zusammen und erhalten ein feinpunktirtes Aussehen. Wir erhalten auf diese Weise einen feinkörnigen Niederschlag, der wesentlich anders aussieht, als der in der unverletzten Zelle fixirte Kern. Es ist ein Niederschlag, der mit den ursprünglichen Kernstrukturen nicht identisch ist. Wir müssen daher annehmen, dass das Kerngerüst durch die Wasserwirkung gequollen und zerstört wurde.

Das Chromatin, welches in Körnchenform dieser achromatischen Gerüstsubstanz eingelagert war, hat sich im ganzen Kern vertheilt, ohne seine Tingirbarkeit verloren zu haben. Fixirt man nämlich die gequollenen Kerne und färbt sie mit Methylviolett nach der Methode von Gram (vgl. pag. 84), so erhalten wir die ganze Kernmasse gleichmässig tingirt, wir müssen daher wohl annehmen, dass das Chromatin gelöst, aber von der achromatischen Gerüstsubstanz festgehalten wurde.

Die Kernkörperchen verschwinden nur selten, das Pyrenin ist also zum grossen Theile unlöslich, dagegen zeigen sie sehr häufig Vacuolenbildung, d. h. es trennt sich in ihrem Inneren ein löslicher Theil von dem unlöslich gewordenen, wobei jedoch der unlösliche Theil an Menge den löslichen fast immer übertrifft.

Was schliesslich die Zwischensubstanz anbelangt, so lässt sich nichts bestimmtes über dieselbe aussagen, es ist nur wahrscheinlich, dass dieselbe auch hier löslich ist, da sie in Kernen, deren Gerüstsubstanz und Nucleolus weniger resistenter gegen Wasser ist, auch noch löslich ist.

Diese Quellungs- und Lösungsvorgänge spielen sich nach dem Verletzen der Zellen sehr rasch ab, so dass es nicht möglich ist, unter gewöhnlichen Umständen die einzelnen Uebergangsformen unter dem Mikroskop zu verfolgen. Beschränken wir jedoch den Wasserzutritt, indem wir die Schnitte in Olivenöl eintragen, wo ihnen dann nur die Flüssigkeit des Zellsaftes zur Quellung zu Gebote steht, oder beobachten wir die Kerne in Hühnereiweiss, wo die zu schnelle Wasseraufnahme durch das Eiweiss und auch durch das umgebende Cytoplasma verhindert wird, so finden wir, dass vor dem Homogenwerden des Kernes eine Trennung der dichteren Substanz von einer weniger dichten Substanz eintritt. Einige Beispiele werden genügen, den Vorgang zu erläutern.

Schnitte durch die Hauptwurzel eines Keimlings von *Pisum sativum* wurden in Olivenöl eingelegt. Die Kerne der unverletzten Zellen (circa 2 mm vom Vegetationspunkt entfernt), waren sehr dicht, stark lichtbrechend, nicht vollständig rund, bei der ersten Einwirkung des Wassers bildeten sich ein-

zelne, unregelmässig gestaltete, ausgezackte hellere Stellen (Taf. IV., Fig. 123 a, b). Unter gleichzeitiger Vergrösserung des Kernes vermehrte sich diese helle Substanz, es trat eine Trennung ein, indem sich die dichtere netzförmig-gerüstartig verbundene Substanz von dieser weniger dichten Substanz schied, die Contouren des Nucleolus blieben sichtbar (Fig. 123 c). Bald darauf wurde jedoch auch dieses balkenartige Gerüst undeutlich (Fig. 123 d) und verschmolz mit der übrigen Substanz zu einer homogenen Masse (Fig. 123 e). Gleichzeitig verschwand der Nucleolus. Die Kernmembran war in diesem Falle nicht deutlich zu unterscheiden.

Das zweite Beispiel bezieht sich auf die Kerne aus dem jungen Endosperm von *Triticum vulgare* (Taf. IV., Fig. 124 a—c). In Eiweiss gelegt quellen manche Kerne gar nicht. Die übrigen verlieren jedoch nach einiger Zeit zunächst ihr glänzendes Aussehen, worauf sich in ähnlicher Weise wie bei *Pisum* die Trennung zwischen dichterer Lininsubstanz und weniger dichter Paralininsubstanz vollzieht. In Fig. 124 a sehen wir den ungequollenen Kern, bei Fig. 124 b ist der Kern theilweise, bei Fig. 124 c vollständig fibrillär geworden. Die Quellung schreitet in diesem Falle nur weiter vor, wenn man statt des Eiweisses Wasser zutreten lässt.

Es kommt im Eiweiss jedoch nicht immer wie bei *Pisum* zur vollständigen Verquellung, es werden vielmehr häufig nur Vacuolen gebildet, in denen sich die gelösten Kernsubstanzen ansammeln. So z. B. bei Kernen aus dem in der Zwiebel eingeschlossenen Vegetationspunkte von *Allium porrum* (Taf. IV, Fig. 132), bei welchen sich am Rande eine grössere Anzahl von Vacuolen bildet.

Diese Beispiele lehren uns, dass bei beschränkter Quellung ein Theil der Kernsubstanz unlöslich bleibt, er bildet ein festeres Gerüst, das jedoch nur theilweise mit dem Gerüst des unverletzten Kernes identisch ist, indem die Form der Fibrillen durch Aneinanderlegen derselben und durch die Flüssigkeitsausscheidung mannigfaltige Veränderungen erleidet. Die übrige Substanz ist die Grundsubstanz des Kernes, das Paralinin, welches sich demnach durch seine grössere Quellungsfähigkeit vom Linin unterscheidet. In diesen Fällen ist die Beschränkung des Wasserzutrittes die Ursache der verminderten Quellung. Die analoge Erscheinung finden wir jedoch auch bei Kernen, deren Quellungsfähigkeit an sich durch innere Ursachen herabgemindert ist. Oft bei denselben Geweben, in denen homogene Quellung der Kerne stattfindet, sehen wir auch Kerne, welche eine weniger quellbare Gerüstsubstanz enthalten, oder Objecte, von denen die Gerüstsubstanz gar nicht quillt. Im letzteren Falle kann die sonst die Zwischenräume des Gerüstes ausfüllende Substanz sich in Form von grossen Tropfen entweder in dem Kerne selbst oder an dessen Peripherie ansammeln. Wir erhalten Vacuolen, welche die flüssige Substanz aufnehmen. Die Kernmembran verhindert das Austreten der Flüssigkeit und nur, wenn die Membran platzt, mischt sich der Vacuoleninhalt mit der umgebenden Flüssigkeit. Die Vacuolenbildung an den Kernen ist ebenso wie bei den Chlorophyllkörpern eine Tren-

nung flüssiger von quellbarer aber nicht löslicher Substanz, sie nimmt jedoch wesentlich andere Formen an als bei den Chlorophyllkörpern. Die Kerne verwandeln sich niemals in einen derartigen Blasenhaufen, wie wir es bei den Chlorophyllkörpern beobachten konnten, die Vacuolen bilden sich vielmehr an der Peripherie des Kernes. Die Kernsubstanz, welche nicht in die Vacuole übergeht, kann entweder homogen bleiben, oder sie kann ein der ursprünglichen Struktur ähnliches Fibrillennetz aufweisen. Das erstere findet z. B. statt bei den Kernen aus dem Epicotyl von *Pisum sativum,* 70 mm vom Vegetationspunkt entfernt (Taf. IV, Fig. 125 und 126), an welchen nur wenige Vacuolen gebildet werden. Die Kernmembran erscheint, wo sie nicht durch die Vacuolen abgehoben ist, doppelt contourirt, durch die Vacuole wird sie jedoch gedehnt, sie wird dünner und erscheint nur mehr einfach contourirt. Der Nucleolus wird bei dieser Quellungsform gut sichtbar. Eine ähnliche Erscheinung haben wir bei den Kernen aus der äussersten fleischigen Schale der Küchenzwiebel (Taf. IV, Fig. 127). Es werden hier zahlreiche Vacuolen gebildet, die nach längerem Liegen des Kerns im Wasser sich noch vermehren. Die Kernmembran war nicht deutlich, die übrige Kernsubstanz etwas gelblich gefärbt, welche Färbung jedoch erst durch die Berührung des Schnittes mit dem Rasirmesser entstanden ist, ebenso vermehrt sich dieselbe bei Zusatz von etwas Eisenchlorid, was auf die Gegenwart eines gerbstoffartigen Körpers schliessen lässt.

Ein etwas anderes Bild erhalten wir bei den Kernen aus jüngeren *Hyacinthen*blüthen. Wir müssen jüngere Entwicklungszustände wählen, da die Kerne der älteren gar nicht mehr quellungsfähig sind. Die Quellung mit Randvacuolen kommt hier nicht sehr häufig vor, wenn sie aber eintritt, so wird die übrige Kernsubstanz nicht homogen, sondern erhält ein körnig-fibrilläres Aussehen, ganz wie ein fixirter Kern (Taf. IV, Fig. 129). Nach meinen sonstigen Erfahrungen liegt hier wahrscheinlich eine partielle Fixirung vor, nur die lösliche Zwischensubstanz sammelt sich in den Vacuolen an. Diese Ansicht wird noch dadurch gestützt, dass wir auch an den oben angeführten homogenen Kernen, sobald die Quellung nicht zu weit gegangen ist, ein analoges Fibrillennetz erhalten können, sobald wir die Kerne durch Alkohol oder Flemming'sche Mischung fixiren.

Dieselben Erscheinungen hat früher schon L. Auerbach[1]) an thierischen Kernen beobachtet, ihnen aber eine andere Deutung gegeben. Auerbach nimmt an, dass bei dem Wasserzutritt die Kernsubstanz schrumpft und dieses Schrumpfen den Austritt eines oder mehrerer zarter Flüssigkeitstropfen zur Folge hat. Eine derartige Schrumpfung konnte ich nirgends beobachten, im Gegentheil, die Kerne vergrössern sich und ich glaube daher, dass meine Ansicht die richtigere ist, nach welcher durch die Wasserwirkung ein Theil des Kernes gelöst wird. Es ist möglich, dass in gewissen Fällen Schrumpfung eintritt u. z. dort, wo die Kernsubstanz netzförmig fibrillär erscheint, in den

[1]) Organologische Studien. Bd. I. 1874. p. 19.

bei weiten meisten Fällen behält jedoch die unlösliche Kernsubstanz ihr homogenes Aussehen, was entschieden darauf hinweist, dass keine Fällung stattgefunden hat, denn bei jedem beliebigen Fällungsmittel erhält der Kern ein körnigfibrilläres Aussehen, bleibt aber niemals homogen. Nach meiner Ansicht ist also die Schrumpfung der Kernsubstanz zur Bildung der Vacuolen nicht nothwendig. Nach Auerbach stellt dieses Stadium der Vacuolenbildung nur eine niedrigere Quellungsstufe dar, bei längerer Einwirkung von Wasser soll der Kern in eine gleichmässig feinpunktirte Kugel übergehen, indem die ganze Kernsubstanz aufquillt. Es ist nicht einzusehen, wie ein- und dieselbe Substanz, das Wasser, zuerst Schrumpfung, dann Quellung bewirken kann, weshalb ich die Richtigkeit dieser Auffassung bezweifle.

Meine auf viele Objecte ausgedehnten Beobachtungen zeigten mir, dass entweder von Anfang an gleichmässige Quellung der Kerne eintrat, oder Vacuolenbildung, aber niemals war das Stadium der Vacuolenbildung eine Vorstufe der gleichmässigen Quellung. Wir haben es also mit Kernen von differenter Quellungsfähigkeit zu thun. In dem einen Falle sind alle Substanzen des Kerns (exclusive der Kernkörperchen) quellungsfähig, wir erhalten dann einen homogen gequollenen Kern, der sich eventuell auch vollständig auflösen kann, im anderen Falle ist ein Theil der Kernsubstanzen nur beschränkt quellungsfähig, der Rest ist löslich; sondert sich dieser Rest in Tropfenform ab, so erhalten wir die Vacuolen.

Zwischen beiden Quellungsformen gibt es Uebergänge. Ist nämlich die sonst unlöslich bleibende und wenig quellbare Substanz etwas stärker quellbar, so kommt es nicht zur vollständigen Trennung der löslichen und unlöslichen Substanzen, d. h. es werden keine Vacuolen gebildet, die lösliche Substanz füllt die Zwischenräume der anderen aus, beide sind meist nicht scharf von einander getrennt, und wir erhalten ein netzförmiges Gerüst, dessen Maschen von der löslicheren Substanz erfüllt sind. Als Beispiele führe ich die Kerne von *Hyacinthus* an (Taf. IV, Fig. 130), oder jene von *Aconitum lycoctonum* (Taf. IV, Fig. 139). Die hier zu Tage tretenden Bilder gleichen vollständig jenen, welche wir bei den homogen quellenden Kernen erhalten, sobald wir den Wasserzutritt beschränken. Man vergleiche nur Fig. 123c oder Fig. 124c und Fig. 130, die Analogie liegt auf der Hand.

Bei richtiger Auswahl der Objecte können wir diese verschiedenen Erscheinungen der Wasserwirkung an ein und demselben Pflanzentheil beobachten. So z. B. bei blauen Blüthen von *Hyacinthus orientalis* (Taf. IV. Fig. 129—131) oder bei dem Epicotyl von *Pisum sativum*. Homogene Quellung und Quellung mit Vacuolenbildung treffen wir fast bei allen Geweben zugleich an, vorausgesetzt, dass überhaupt Quellung stattfindet. Diese verschiedenen Quellungsformen sind also nicht durch verschiedene chemische Zusammensetzung bedingt, denn innerhalb desselben Gewebes einer Pflanze müssen wir wohl gleichartige chemische Zusammensetzung annehmen.

Ebenso wie bei den homogen quellenden Kernen vertheilt sich bei den Randvacuolen bildenden Kernen das Chromatin und verliert seine Körnchen-

form, ohne jedoch in die Vacuolenflüssigkeit überzugehen, das Linin bildet die eigentliche Masse der unlöslichen Substanz, wovon wir uns bei der Fixirung der vacuolenbildenden Kerne überzeugen können. Die Nucleolen bleiben hierbei immer ungelöst, ebenso die in vielen Fällen deutlich wahrzunehmende Kernmembran. Von den Substanzen des Kerns ist es also die sog. Grundsubstanz, das Paralinin, welches in die Vacuolen übergeht. Dass die Vacuolen wirklich Proteinsubstanzen enthalten, können wir nachweisen, indem bei der Anwendung von Fällungsmitteln in denselben ein feiner Niederschlag entsteht.

Dabei ist jedoch noch zu berücksichtigen, dass an der Vacuolenbildung auch noch die übrigen im Kerne selbst vorkommenden Substanzen ausser den gelösten Proteinstoffen theilnehmen können. Es ist jedoch schwer festzustellen, welchen Antheil das Paralinin und diese übrigen Stoffe haben. Aus der Vacuolenbildung allein dürfen wir daher noch nicht auf die Löslichkeit des Paralinins schliessen. Da dieser Stoff jedoch in vielen Fällen nachweislich stark quillt, ausserdem in den Vacuolen ein Proteinniederschlag entsteht, ist es sehr wahrscheinlich, dass er es ist, welcher bei der ausgesprochenen Vacuolenbildung in Lösung geht.

Es bleibt nun noch zuletzt übrig, einen Theil jener Pflanzen zu nennen, an welchen ich homogene Quellung oder Randvacuolenbildung beobachtet habe. Dies Verzeichniss ist nicht vollständig, da ich nicht alle von mir untersuchten Pflanzen notirt habe.

Vorwiegend homogene Quellung fand ich an folgenden Pflanzen: *Helianthus annuus,* Epidermis des Hypocotyls, *Phaseolus multiflorus,* Haupt- und Nebenwurzeln junger Keimpflanzen, *Tradescantia zebrina,* Stengel und Blätter, *Brassica rapa* var. *crispa* Blätter, *Ulmus corylifolia* und *Betula alba*, in der Knospe eingeschlossene junge Blätter, *Allium porrum,* Blüthenschäfte, *Solanum tuberosum,* ganz junge kleine Knollen, *Hyacinthus orientalis*, junge Blüthe.

Vorwiegend Vacuolenbildung fand ich bei: *Helianthus annuus*, Parenchym des Hypocotyls, *Lupinus luteus,* Hypocotyl, *Vicia faba*, Epicotyl, *Allium cepa,* ältere Zwiebelschalen, *Phaseolus multiflorus,* junger Stengel, *Impatiens Sultani,* jüngere Internodien.

Wir haben die löslichen Kerne besprochen, sowie die quellbaren und vacuolenbildenden ins Auge gefasst, hiermit ist jedoch die Reihe der Reactionen nicht erschöpft, indem wir noch jene Kerne zu berücksichtigen haben, welche bei der Einwirkung von Wasser vollständig unlöslich und unquellbar bleiben.

Ich habe schon im ersten Kapitel auf die Acidität des Zellsaftes hingewiesen, dieselbe kann sich auch, wie bekannt, in dem ausgepressten Pflanzensafte geltend machen, wenn die aus dem Protoplasma austretenden Alkalien nicht zur Neutralisation desselben hinreichen. Sehr geringe Mengen von Säure verändern die Wasserwirkung nicht, wenn der Zellsaft jedoch stärker sauer reagirt, so muss er beim Verletzen der Zelle in derselben

Weise einen Einfluss auf das Protoplasma ausüben, als wenn wir zu einer Zelle mit wenig saurem oder neutralen Zellsafte verdünnte Säure hinzufügen würden. Schon sehr verdünnte organische Säuren wirken auf das Protoplasma immer fixirend und dieselbe Wirkung wird der stärker saure Zellsaft ausüben, sobald die Zelle verletzt ist. Die Kernsubstanzen sind nun besonders empfindlich gegen die Einwirkung von Säuren, sie werden durch diese relativ schnell in einen unlöslichen Zustand übergeführt, so dass sie durch Wasser nicht mehr verändert werden. Da es sich hier um eine Fixirung handelt, ist es leicht erklärlich, dass die einzelnen Strukturelemente deutlicher hervortreten, als in der lebenden unverletzten Zelle.

Eine analoge Wirkung beobachten wir, sobald die Zelle in höherem Grade gerbstoffhaltig ist. Der Gerbstoff sammelt sich ebenfalls im Zellsafte an und macht seine Wirkung auf das Protoplasma geltend, sobald die Zelle verletzt ist. Sehr geringe Mengen von Gerbstoff fixiren das Plasma noch nicht, besonders da der Gerbstoff alkalisch reagirende Proteinstoffe nur schwierig fällt, das Protoplasma im Allgemeinen und der Kern im Speciellen wird jedoch gefällt und fixirt, sobald die Menge des Gerbstoffes ein grössere ist, namentlich wenn der Zellsaft ausserdem noch sauer reagirt. Davon, dass der Gerbstoff in der unverletzten Zelle wirklich nur im Zellsaft enthalten ist, können wir uns leicht überzeugen, indem wir gerbstoffhaltige unverletzte Zellen in eine Lösung von Kalibichromat einlegen. Es entsteht dann nur im Zellsaft der bekannte Niederschlag. Betrachten wir dagegen die verletzten Zellen, so lässt sich durch Zusatz von Eisenchlorid nachweisen, dass die Plasmatheile den Gerbstoff absorbirt haben, wodurch sie natürlich in einen im Wasser unlöslichen Niederschlag verwandelt werden.

Fast in allen Fällen, wo Unlöslichkeit der Kerne zu beobachten war, liess sich entweder Gerbstoff oder Säure in grösserer Menge nachweisen, und ich glaube daher, dass diese beiden Stoffe vor allen anderen die Fixirung der Kerne verletzter Zellen bewirken, womit natürlich nicht ausgeschlossen ist, dass bei bestimmten Pflanzen die Fällung auch durch andere Stoffe bewirkt werden kann.

Für jene Pflanzen, wo weder der Zellsaft stark sauer war, noch Gerbstoff zugegen war, liegt ausserdem die Möglichkeit nahe, dass die Proteinstoffe in eine unlösliche Modification übergegangen waren. Die im Vorhergehenden besprochene partielle Unlöslichkeit des Kernkörperchens kann sich ja auf sämmtliche Kernsubstanzen ausdehnen. Die hierher zu rechnenden Fälle sind jedoch so wenig zahlreich, dass sie an den allgemeinen Resultaten nicht viel ändern.

Bringen wir einen dünnen Schnitt von Pflanzentheilen, welche Säure oder Gerbstoff in etwas grösserer Menge enthalten, auf dem Objectträger in Wasser, so wird der Gerbstoff oder die Säure nicht an allen Stellen gleichmässig concentrirt sein, am Rande des Schnittes wirkt eine verdünntere Lösung ein als in der Mitte des Schnittes, wo weniger Wasser zutritt und der Zellsaft weniger verdünnt wird. Ausserdem ist häufig der Gerbstoffgehalt auf bestimmte Zelllagen beschränkt und die fixirende Wirkung desselben wird

sich danach richten, wie er sich über die anderen Zellen verbreitet. Diesen Verhältnissen entsprechend, wird die Fixirung mehr oder weniger vollständig sein, rascher oder langsamer vor sich gehen können und in Folge dessen sehen wir verschiedene Formen der Kernfixirung auftreten.

Wirkt nur sehr wenig Gerbstoff ein, so erhalten wir analoge Bilder, wie ich sie im Vorhergehenden beschrieben habe. Ein Theil der Kernsubstanzen bildet unlösliche Fibrillen, während der lösliche Theil die Räume zwischen den Fibrillen ausfüllt oder sich in Vacuolen ansammelt. Ist dagegen viel Gerbstoff vorhanden, geht daher die Fällung schnell vor sich, so erhalten wir jene bekannten körnigen Fixirungen, wie sie auch durch andere fixirende Mittel hervorgerufen werden. Der Kern wird dicht, compakt, körnig und in allen seinen Theilen unlöslich in Wasser (Taf. IV, Fig. 135). Bei geringerem Gerbstoffgehalt und langsamerer Fällung ist der Kern noch besonderen Veränderungen unterworfen. Es bildet sich entweder eine centrale Vacuole oder die Kernmembran hebt sich von der übrigen Substanz ab. Die centrale Vacuole (vgl. hierzu Taf. IV, Fig. 140 und 141) entsteht einerseits dadurch, dass die Kernsubstanz schrumpft und sich so von dem Nucleolus abhebt, andererseits wird die noch nicht vollständig fixirte, also noch dehnbare Kernsubstanz ausgedehnt, indem die in der Vacuole enthaltenen Stoffe Wasser anziehend wirken. Analoge Bildungen erhalten wir, wenn wir den Kern mit KH_2PO_4 (vgl. § 21) behandeln; auch bei der Einwirkung von Picrinsäure entstehen bei langsamer Einwirkung Hohlräume um den Nucleolus; hierbei handelt es sich aber nur um Schrumpfungen der Kernsubstanz, während bei der combinirten Wasser-Gerbstoffwirkung ausserdem noch eine Vergrösserung des ganzen Kernvolumens stattfindet.

Beim Abheben der Kernmembran tritt ebenfalls eine Schrumpfung der Lininsubstanz ein, ausserdem aber wird die Membran durch die zwischen Lininsubstanz und Membran befindliche Flüssigkeit ausgedehnt, indem die letztere osmotisch wirksam ist. Der ganze von der Kernmembran umschlossene Raum ist demnach grösser als das ursprüngliche Kernvolumen. Die geschrumpfte Kernsubstanz hebt sich zumeist nicht von dem Nucleolus ab, manchmal kommt es jedoch auch noch zur Bildung einer kleinen centralen Vacuole (Taf. IV, Fig. 143).

Ich glaube, dass der eben beschriebene Vorgang sich der Bildung der Randvacuolen anschliesst. Nehmen wir z. B. einen Kern von *Allium cepa* (Taf. IV, Fig. 127), an welchem zahlreiche Randvacuolen gebildet werden, so ist der Fall wohl denkbar, dass diese Vacuolen ineinander fliessen und auf diese Weise eine einzige grosse Vacuole an der Peripherie der übrigen Kernsubstanz gebildet wird, wodurch sich naturgemäss die ganze Kernmembran abhebt. Man könnte mir vielleicht einwenden, dass jenes Gebilde, das ich für die abgehobene Kernmembran halte, nur ein Theil des Cytoplasmas sei, aber gerade an den Objecten, wo ich die besprochene Erscheinung beobachten konnte, war das Cytoplasma vollständig verquollen, ohne sonst ein ähnliches Membrangebilde zurückzulassen. Da die Substanz der

Kernmembran, das Amphipyrenin, ausserdem mit dem Cytoplastin, der Proteinsubstanz des Cytoplasmas gar nicht übereinstimmt, ist die Annahme, die Membran zum Cytoplasma zu rechnen, hinfällig. Aehnliche Bilder dagegen können durch das Verquellen von Stärkebildnern entstehen, welche den Kern umgeben, indem die äusseren Begrenzungen derselben mit einander verschmelzen. Vor derartigen Verwechselungen hat man sich daher zu hüten.

Man könnte glauben, dass die hier besprochenen Erscheinungen nicht durch den Gerbstoff des Zellsaftes, sondern durch die chemische Zusammensetzung des Kernes verursacht sind, dass also quellbare und unlösliche Kerne chemisch different wären. Dagegen spricht jedoch die Thatsache, dass wir die verschiedenen Reactionen gleichzeitig an demselben Gewebe beobachten können. Die gleiche chemische Zusammensetzung der Kerne innerhalb desselben Gewebes vorausgesetzt, müssen wir annehmen, dass die Differenzen der Wasserwirkung durch die verschieden starke Beimengung eines anderen Reagens bewirkt sind, zumal da wir diese Erscheinungen nur bei Anwesenheit von Gerbstoff wiederfinden. So kann man z. B. an den Stengeln von Kartoffeln alle Uebergänge von der homogenen Quellung bis zur vollständigen Fixirung finden: homogene Quellung — Fig. 137, theilweise homogene Quellung, es bleiben Körnchen und Fibrillen erhalten — Fig. 138, Quellung mit Randvacuolen — Fig. 133, Trennung dichterer fibrillärer Substanz von weniger dichter Substanz — Fig. 134, Bildung einer Centralvacuole — Fig. 140, Abhebung der Kernmembran — Fig. 136, vollständige Fixirung — Fig. 135.

Ebenso finden wir bei den Kernen aus der Epidermis der rothen Rübe (Taf IV, Fig. 141, 142, 143) sehr verschiedene Formen der Wasserwirkung. Die Quellung unterblieb in Folge des Gerbstoffgehaltes ausserdem noch bei folgenden Pflanzen: *Alnus glutinosa, Corylus avellana, Aesculus hyppocastanum,* jüngste Blätter in den Knospen, *Geranium Robertianum*, älteres Internodium, *Aconitum lycoctonum* Stengel, *Quercus robur* Blätter, *Maxillaria picta* Knolle, *Episcia metallica* Stengelspitze, *Phajus grandifolius* (?) Knolle, *Pholidota imbricata* (?) Knolle, *Trifolium pratense*, Keimlinge.

Bei der Anwesenheit von Säure im Zellsaft werden die Kernsubstanzen ebenfalls unlöslich, es unterbleiben alle weiteren Veränderungen, höchstens findet man die Gerüstsubstanz etwas auseinandergewichen und verschoben. Figur 147a gibt uns einen ungequollenen Kern aus unreifen Weinbeeren wieder, während bei Fig. 147b und 147c in den Kernen durch die Wasserwirkung fibrilläre Bildungen sichtbar geworden sind. Die Kerne sehen nicht so undurchsichtig und compakt aus wie bei der Gerbstofffixirung.

Unlöslichkeit in Folge des Säuregehaltes im Zellsaft fand ich bei folgenden Pflanzen: *Vitis vinifera*, unreife Beere, *Begonia hycotylefolia*, Blatt, *Vanda furva*, Luftwurzel, *Impatiens Sultani,* älteres Internodium, *Aloe perforata,* junge und alte Blätter, *Oncidium altissimum,* Blatt, *Calathea Makayana*, Blattepidermis, *Blechnum occidentale,* junges Blatt.

Ausserdem fand ich noch unlösliche Kerne, wo sich aber weder Gerbstoff noch Säure nachweisen liess, bei *Hyacinthus orientalis,* alte blaue

Blüthe, *Cypripedium venustum,* Blattparenchyn und Epidermis, *Cymbidium aloefolium,* Blatt, denen sich vielleicht auch *Phajus grandifolius* und *Pholidota imbricata* anschliesst, bei denen nur wenig Gerbstoff nachzuweisen war.

Bei der Einwirkung von siedendem Wasser bleiben alle Zellkerne vollständig erhalten. Zumeist treten die Kernkörperchen scharf hervor, die übrige Substanz wird undurchsichtig. In den meisten Fällen war eine feinere Struktur nach dem Eintauchen in siedendes Wasser nicht mehr zu erkennen. Erfüllen die Fibrillen wie z. B. bei *Phajus* (Taf. III, Fig. 109) nicht den ganzen Kern, so schrumpfen dieselben beim Erwärmen zu undeutlichen Kugeln zusammen (Taf. III, Fig. 113), war jedoch das Gerüst mächtiger, so sehen wir an den erwärmten Kernen entweder nur ein undeutliches Netzgerüst, oder die Kerne erscheinen vollständig homogen undurchsichtig.

Das Chromatin bleibt auch nach längerem Erwärmen im Kerne erhalten und lässt sich leicht durch die Gram'sche Färbung nachweisen. Auch die übrigen Kernstoffe werden, soweit sich dies an den undeutlichen Bildern constatiren lässt, durch Erhitzen leicht coagulirt und es muss mir daher fraglich erscheinen, ob im Kern überhaupt durch Hitze nicht coagulirbare Stoffe vorkommen. Man könnte in dieser Beziehung vielleicht an das Paralinin denken, indem das Kernvolumen beim Erwärmen kleiner wird und diese Volumverminderung auf die Lösung von gewissen Substanzen zurückzuführen wäre. Dies ist jedoch durchaus nicht beweisend, indem durch die Coagulation allein diese Volumverminderung bedingt sein dürfte. Nur soviel ist sicher, dass jedenfalls nur ein sehr kleiner Theil der Kernstoffe in heissem Wasser löslich ist, vielleicht sind jedoch alle Stoffe coagulirbar. Ausscheidung von Tropfen wie bei den Chlorophyllkörpern ist niemals zu constatiren.

Die Resultate unserer Untersuchungen sind:

Die Zellkerne verhalten sich bei Zutritt von Wasser nicht alle gleich.

1) Es kann vollständige Lösung eintreten, sämmtliche Substanzen des Kerns, auch das Pyrenin (der Nucleolus), werden gelöst.
2) Es tritt nur partielle Lösung ein, wodurch der Kern fibrillär wird oder an seiner Peripherie Vacuolen bildet; hierbei erweist sich das Pyrenin und Amphipyrenin (der Nucleolus und die Kernmembran) als unlöslich und unverändert, das Linin (die Gerüstsubstanz) ist unlöslich, aber kann in einem gequollenen Zustand verbleiben, das Chromatin vertheilt sich in der Gerüstsubstanz, das Paralinin geht in die Vacuolen über, ist demnach löslich.
3) Die Kerne sind unlöslich, werden durch das Wasser nicht verändert. In den meisten Fällen ist diese Unlöslichkeit nachweislich durch den Zutritt der im Zellsafte vorhandenen Gerbstoffe oder durch die Säure hervorgerufen.

Bei der Gerbstoffwirkung können wir die Bildung einer

centralen Vacuole oder das Abheben der Kernmembran beobachten; dabei tritt Schrumpfen der Kernsubstanz ein. Ausserdem wurden noch in Wasser unlösliche Kerne beobachtet, obgleich weder Gerbstoff noch Säure vorhanden war. Es ist fraglich, ob hier an sich unlösliche Kerne vorlagen, oder ob die Fällung etwa durch andere Substanzen bewirkt wurde.

Das verschiedene Verhalten der Kerne ist zumeist durch den Zutritt von Gerbstoff oder Säure bedingt, ausserdem aber scheint die grössere Löslichkeit an den jüngsten Theilen der Pflanzen durch den grösseren Kaligehalt hervorgerufen zu sein; mit dem Alter und der Verminderung des Kaligehaltes nimmt die Quellbarkeit der Substanzen ab, wir erhalten dann Zustände, wie sie unter 2) zusammengefasst sind.

In heissem Wasser sind alle Kernstoffe unlöslich, nur bei dem Paralinin ist die Löslichkeit nicht vollständig ausgeschlossen, wenn auch nicht wahrscheinlich.

§ 19. Auswahl der Objecte zu den übrigen Reactionen.

Selbstverständlich konnte ich bei den zahlreichen von mir angewendeten Reagentien nur eine beschränkte Menge von Pflanzen untersuchen. Bei der Auswahl der Objecte liess ich mich durch die bei der Wasserwirkung gemachten Erfahrungen leiten, indem ich vorerst jene Pflanzentheile ausschied, deren Zellsaft Gerbstoff und Säure in grösserer Menge enthielt. Wir sahen, wie durch die Anwesenheit jener Stoffe der Erfolg der Wasserwirkung wesentlich modificirt wird, und wenn auch der Einfluss dieser Substanzen gegenüber den hinzugefügten Reagentien mehr in den Hintergrund treten musste, so schien es mir doch nothwendig, derartige zweifelhafte Reactionen zu vermeiden. Dort, wo in Folge des Reagentienzusatzes Fällungen eintreten, wird die Gegenwart von Gerbstoff oder Säuren dieselben nur begünstigen, wo es sich jedoch um totale oder partielle Lösungen handelt, würden wir zu leicht auf mangelhafte und unvollständige Reactionen stossen. Trotzdem habe ich nicht darauf verzichtet, auch die in Wasser unlöslichen Kerne in den Bereich meiner Untersuchungen zu ziehen, ich wählte jedoch Pflanzenzellen, wo nur wenig oder gar kein Gerbstoff vorhanden war. Es gehören hierher die Kerne aus den Knollen von *Phajus grandifolius* und aus der Blumenblattepidermis blauer Hyacinthen. Namentlich empfiehlt sich, wie dies schon E. Zacharias[1]) hervorgehoben, *Phajus* zu diesen Untersuchungen. Das Chromatin kommt hier in Form grösserer Kugeln vor (vgl. Taf. III, Fig. 105), deren Verhalten gegen Reagentien leichter zu verfolgen ist, als wenn das Chromatin in sehr kleinen Körnchen im Gerüst ver-

[1]) Bot. Zeitung 1882 p. 653.

theilt ist. Zacharias hat diese Kugeln mit dem Namen Körperchen bezeichnet, es liegt jedoch bei der vollständigen Gleichheit der Reactionen kein Grund vor, dieselben nicht als Chromatin zu bezeichnen. Auch die Kerne aus dem Blatte von *Cymbidium aloefolium* (Taf. III, Fig. 98) wären wegen der Deutlichkeit der Chromatinkugeln zur Untersuchung zu empfehlen.

Zur Untersuchung der in Wasser löslichen Kerne verwendete ich Wurzelspitzen junger Keimlinge von *Pisum sativum* und die jüngsten Internodien der Keimpflanzen von *Vicia sativa*. Es ist bei diesen Objecten nicht nothwendig, die Kerne vom Vegetationspunkt selbst zu nehmen, da dieselben bis zu einer Entfernung von 1 — 2 cm noch löslich bleiben; in älteren Internodien von *Vicia sativa* ist man dagegen nicht ganz sicher, noch vollständig lösliche Kerne zu finden, sie sind dann nur mehr quellbar.

Die jungen Internodien der Keimpflanzen von *Lupinus luteus* und *Vicia faba* lieferten mir das Material zur Prüfung nur quellbarer und Randvacuolen bildender Kerne. Bei *Vicia faba* ist wohl etwas Gerbstoff zugegen, aber derselbe bewirkt höchstens eine Trübung der gequollenen Kernsubstanz und ist den übrigen Reactionen nicht hinderlich.

Ausser den genannten Pflanzen, an welchen ich sämmtliche Reactionen durchprüfte, wurden noch für einzelne mir wichtiger erscheinende Reactionen andere Pflanzen herangezogen, um die erhaltenen Resultate mit mehr Recht verallgemeinern zu können. Die ausgewählten Pflanzen hatten hinreichend grosse Kerne, um die Details gut verfolgen zu können.

Damit die angewendeten Reagentien unmittelbar auf den Zellkern wirken konnten, ist es nothwendig, die Zellen anzuschneiden oder dünne Schnitte, die in dem betreffenden Reagenz liegen, zu zerzupfen, denn wenn man Stoffe anwendet, welche die Zelle nicht sogleich tödten, so tritt das Reagenz, dem langsamen Absterben der Zellen entsprechend, nur allmählich zum Kern, während dieser Zeit machen sich Gerinnungserscheinungen am Kerne geltend, oder es kommt der unvermischte Zellsaft zur Wirkung, so dass wir nur mehr die Eigenschaften des durch den Zellsaft veränderten Kernproduktes eruiren können.

§ 20. Einwirkung von Neutralsalzen verschiedener Concentration auf die Zellkerne.

Fassen wir zunächst das Verhalten gegen Kochsalz ins Auge, so sehen wir, dass verdünntere Lösungen die Löslichkeit der Kerne bedeutend erhöhen, während concentrirte Lösungen die Zellkerne fällen. Die bei der Darstellung der Eiweissstoffe übliche 10proc. Kochsalzlösung bringt die Zellkerne der Erbse und der Wicke sogleich zur vollständigen Lösung, während bei *Vicia faba* und *Lupinus luteus* zunächst starkes Aufquellen eintritt, wobei der ganze Kerninhalt sich in eine homogene Masse umwandelt, während die Kernmembran anfangs jeder Veränderung widersteht. Bei *Lupinus* sondert sich eine dichtere, netzartig verbundene Substanz von einer mehr flüssigen

Substanz, welche die Zwischenräume der ersteren ausfüllt, bis schliesslich ebenso wie bei *Vicia faba* der ganze Kerninhalt gelöst wird, wobei auch die anfangs widerstandsfähigere Kernmembran zum Verschwinden kommt.

Beim Einlegen dünner Schnitte aus den Knollen von *Phajus*, die fast nur angeschnittene Zellen enthielten, in die 10procentige Kochsalzlösung, quellen die Chromatinkörnchen sogleich auf, dann auch die übrigen Kernsubstanzen ebenso wie die Nucleolen, nur die Kernmembran bleibt anfangs etwas widerstandsfähiger, nach längerem Verweilen werden jedoch auch hier sämmtliche Kernsubstanzen gelöst und nur ausnahmsweise bleiben einzelne Kerne erhalten. Wir sehen also, wie auch in Wasser unlösliche Kerne durch Kochsalz löslich gemacht werden.

Diese Beobachtungen an *Phajus*kernen stimmen nicht vollständig mit den folgenden Angaben von E. Zacharias[1]) überein. Wurde zu frischen Schnitten aus der Knolle 10procentige Kochsalzlösung hinzugefügt, so lösten sich die Körperchen sofort (von mir als Chromatinkugeln bezeichnet), während die Nucleolen unverändert blieben, gleichzeitig wurde eine stark lichtbrechende, doppelt contourirte Membran sichtbar, welche den Kern umgab. Bei plötzlichem Zutritt der Kochsalzlösung erfolgte die Quellung der Körperchen sehr rasch und intensiv, die Membran platzte und die Nucleoli sammt Theilen der Zwischensubstanz, welche die Räume zwischen den Körperchen und Nucleolen am Kern ausgefüllt hatte, wurden ausgestossen. Hatte die Kochsalzlösung weniger plötzlich eingewirkt, so blieb die Struktur des Kerns selbst nach 40stündigem Liegen des Präparates in der Lösung im wesentlichen erhalten. Die Zwischensubstanz war deutlich geworden und umgab Hohlräume, aus welchen die Körperchen vollständig heraus gelöst zu sein schienen. Die Nucleoli hatten sich nicht verändert.

Diese Darstellung des Vorganges durch Zacharias macht es wahrscheinlich, dass Zacharias immer die Schnitte zuerst in Wasser gelegt hat und dann die Kochsalzlösung, wie er selbst sagt, hinzufügte; denn nur so kann ich es mir erklären, wenn dieser Autor von einer schnelleren oder langsameren Kochsalzwirkung spricht. Es ist nun auffallend, dass bei verschieden schnellem Zutritt des Kochsalzes sich die Reaction derartig ändert und ich kann mir dies nicht anders erklären, als dass bei dem allmähligen Zutritt des Kochsalzes, bei welchem sich der Kern als weniger löslich erweist, vor dem Hinzutreten des Kochsalzes Veränderungen im Kern vor sich gegangen sind, resp. Einwirkungen des Zellsafts Platz fanden, wodurch der Kern an und für sich unlöslicher geworden ist. Ich glaube, dass hierdurch die Differenz zwischen meinen Angaben und denen von E. Zacharias zu erklären ist. Diese Vermuthung wird mir durch eine andere Beobachtung an den sonst so leicht quellbaren Kernen aus dem Epicotyl von *Pisum sativum* bestätigt. Legt man dieselben zuerst in Wasser und fügt dann Koch-

[1]) Bot. Zeitung. 1882. p. 654.

salzlösung hinzu, so werden die Kernsubstanzen wenigstens theilweise gefällt. Derselbe Vorgang hat vielleicht auch bei *Phajus* stattgefunden.

In ähnlicher Weise wurde die Kochsalzreaction in einem anderen später von Zacharias erwähnten Falle[1]) modificirt. Schnitte aus der Fruchtlknotenwand von *Galanthus nivalis* wurden in eine 10procentige Kochsalzösung gelegt, die unverletzten Zellen wiesen Plasmolyse auf. Nach längerer oft mehrtägiger Dauer platzten der Zellsaft, und im Kern ist ein sehr lockeres Fadenwerk zu sehen, welches besonders an geplatzten Kernen, wo es stark auseinandergezogen wird, sehr deutlich hervortreten soll. Nach meiner Ansicht wird bei dem langsamen Absterben der Zellen das Protoplasma sowie der Kern zunächst durchlässiger für die Stoffe des Zellsaftes und dieser wirkt schon auf den Kern ein, bevor das Kochsalz zur Geltung kommt. Dasselbe wirkt auf den Kern erst nach dem Platzen der Cytoplasmahülle ein, findet den Kern dann aber schon theilweise verändert, was die partielle Unlöslichkeit zur Folge hat; es bleibt ein lockeres Fadenwerk gequollener Substanz zurück.

Besonders hervorzuheben wäre dabei noch, dass auch an diesen etwas veränderten Kernen das Chromatin löslich bleibt, die Stoffe des Kerns verhalten sich demnach nicht alle gleich.

Für meine Ansicht kann ich noch ein weiteres Beispiel anführen. Die Kerne aus dem Stengel von *Platanthera bifolia* lösen sich auf, sobald man die verletzten Zellen unmittelbar in eine 10procentige Kochsalzlösung bringt, die Kerne bleiben dagegen erhalten, wenn die Zelle in der Kochsalzlösung abstirbt.

Eine interessante Erscheinung konnte ich ebenfalls an *Platanthera* beobachten. Unverletzte Zellen, die in 4procentiger Kochsalzlösung zuerst plasmolysirt und dann allmählig abgestorben waren, zeigten nach 17 Stunden Zellkerne, in denen sich die Gerüstsubstanz von der Membran zurückgezogen hatte (Taf. IV, Fig. 144), die Kernmembran erwies sich als unlöslich und ebenso der contrahirte Kernrest. Ich erwähne diesen Fall besonders, da es sonst, abgesehen von den Entwicklungszuständen unmittelbar nach der Theilung, sehr selten vorkommt, dass sieh die Kernmembran von der übrigen Kernsubstanz trennt. Man konnte ausserdem hier sehr deutlich wahrnehmen, dass die Kernmembran mit Poren versehen war, eine Erscheinung, die sonst vielleicht deshalb nicht so klar zu Tage tritt, weil Kernsubstanz die Poren der Membran ausfüllt.

Der Vollständigkeit halber sei noch erwähnt, dass bei starkem Säuregehalt der Zellen das Kochsalz keine lösende Wirkung ausübt, die Kerne werden dann, wie z. B. an den Blattzellen von *Begonia hycotylefolia*, vollständig fixirt. Es stimmt dies mit den Erfahrungen der Chemiker überein, dass fast alle Eiweissstoffe durch ein Gemisch von Kochsalz und verdünnte Säure gefällt werden.

---

[1]) Bot. Zeitung. 1885. p. 263. Anmerkung.

Von anderen Neutralsalzen geringerer Concentration untersuchte ich noch eine 10procentige Lösung von schwefelsaurer Magnesia, dieselbe wirkte ganz wie Kochsalz, und, wie ich noch besonders hervorhebe, auch die sonst schwer löslichen Kerne von *Phajus* wurden vollständig aufgelöst.

Wesentlich anders als die Neutralsalze geringerer Concentration wirken die gesättigten oder hochconcentrirten Lösungen derselben. Ich untersuchte 20procentige Kochsalzlösung und gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia, ausserdem noch gesättigte Lösung von schwefelsaurem Ammoniak.

In 20procentiger Kochsalzlösung quellen die Kerne etwas auf, ohne sich jedoch zu lösen. Einzelne Ausnahmen hiervon fand ich nur bei den Kernen aus der Wurzelspitze von *Pisum sativum*, aber auch hier löste sich die Mehrzahl der Kerne nicht auf. Das Linin und Paralinin der Kerne wird in eine durchsichtige Gallerte verwandelt, die unter dem Mikroskop bei sehr starker Vergrösserung eine sehr feine und zarte gleichmässige Punktirung zeigt, bei schwacher Vergrösserung erscheint sie homogen. Die Chromatinkörnchen und Kugeln sind verschwunden, das Chromatin hat sich in der homogenen Masse vertheilt. Bei etwas schwächerer Quellung können in einzelnen Fällen in der gequollenen Kernmasse Fibrillen sichtbar bleiben, dieselben verquellen jedoch später ebenfalls. Pyrenin und Amphipyrenin dagegen bleiben erhalten. Die Nucleolen werden ziemlich durchsichtig, ohne sich zu lösen oder ihre Form zu verändern. Man kann sie nicht immer leicht in der übrigen Kernmasse sehen, durch Zusatz von Farbstoff oder durch Anwendung fixirender Substanzen kann man sich jedoch von ihrer Gegenwart überzeugen. Sehr deutlich tritt in allen Fällen die Kernmembran hervor, sie hebt sich deutlich als doppelte Contour von dem Kerninhalte ab. Sie grenzt sich besonders scharf ab, wenn man die Kerne längere Zeit (über 12 Stunden) in der concentrirten Kochsalzlösung liegen lässt, es werden sodann auch die Poren in der Membran sichtbar. Um letztere zu sehen, ist allerdings nicht jedes Object geeignet, indem man bei weniger günstigen Objecten nur hellere und dunklere Stellen in der Membran wahrnimmt. Viel trägt zum Erkennen der Poren gute Beleuchtung vermittelst des Abbè'schen Condensors bei.

Wir sehen also, dass beim Einbringen der Kerne in die 20procentige Kochsalzlösung Pyrenin und Amphipyrenin unlöslich bleiben, während die übrigen Substanzen verquellen. Bei dem Mangel einer Struktur in der gequollenen Masse können wir nicht sagen, ob das Chromatin, die achromatische Gerüstsubstanz und die Grundsubstanz alle nur gequollen sind, oder ob die eine oder die andere derselben sich auch gelöst hat.

Das Verhalten der Kerne in gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia bis in die Details zu verfolgen, wird dadurch erschwert, dass die einzelnen Strukturelemente in dieser Flüssigkeit so undeutlich werden. Bringt man die angeschnittenen Zellen in die gesättigte Lösung, so bleiben die Kerne immer erhalten, nur wenn die schwefelsaure Magnesia, wie z. B. an wenig verletzten Zellen, nur allmählig mit dem Kerne in Berührung kam,

machten sich Lösungserscheinungen geltend, was ja auch natürlich ist, da eine verdünntere Lösung die Kerne ziemlich leicht aufnimmt.

Im Allgemeinen ist der Effect gesättigter Lösung von $MgSO_4$ derselbe, wie bei Kochsalz in hoher Concentration. Die Kernmembran und die Nucleolen sind unlöslich, das Chromatin ist löslich. Die achromatische Gerüstsubstanz und die Grundsubstanz werden zumeist in eine Gallerte umgewandelt, in welcher man die beiden Strukturelemente nicht mehr genau unterscheiden kann. Doch behalten die Kerne häufig eine, wenn auch undeutliche fibrilläre Struktur, so dass man annehmen muss, die achromatische Gerüstsubstanz ist wohl etwas quellbar aber unlöslich. Sehr deutlich schied sich das Linin der Fibrillen von dem Paralinin der Gerüstsubstanz bei den Kernen von *Phajus* (Taf. III, Fig. 110). Die Zahl der Fibrillen ist hier gering, wovon man sich auch bei fixirten Kernen überzeugen kann (Taf. III, Fig. 109). Sie erleiden durch das Einlegen in die Salzlösung keine Veränderung, dagegen wird das Chromatin gelöst und die Grundsubstanz quillt stark auf. Auch von der Unlöslichkeit der Kernmembran und des Nucleolus kann man sich bei Fig. 110 überzeugen.

Einzelne Modificationen machen sich im Verhalten der anderen Kerne wohl geltend, im Grossen und Ganzen bleibt jedoch die Reaction gleich. So ist das Chromatin in den Kernen von *Pisum* und *Vicia sativa* etwas schwerer löslich, die Grundsubstanz und die Fibrillen quellen bei *Vicia faba, Vicia sativa, Pisum* weniger als bei *Phajus,* bei *Lupinus* etwas mehr. Ebenso sind die Kernkörperchen bei *Lupinus* nicht vollständig unlöslich. Wenn dies schliesslich auch nur quantitative Unterschiede in der Reaction sind, so werden sie doch den Werth der schwefelsauren Magnesia als Reagenz vermindern, wozu noch die Undeutlichkeit der Bilder unter dem Mikroskop hinzukommt.

Die kaltgesättigte Lösung von schwefelsaurem Ammoniak giebt ebenfalls keine klaren Kernbilder und dürfte sich deshalb nicht für die mikroskopische Untersuchung des Zellinhaltes eignen. Die Kerne sind in dieser Flüssigkeit unlöslich, bis auf das Chromatin, welches jedoch auch nicht sehr leicht aufgenommen wird. Die Kerne werden nicht momentan fixirt, sondern erleiden Veränderungen theilweise durch Hinweglösung des Chromatins, theilweise durch die Entziehung von Wasser. So weit man unter diesen Verhältnissen ein genaues Urtheil fällen kann, scheint mir ausser dem Chromatin nichts gelöst zu werden. Das Resultat ist jedoch nicht vollständig sicher.

Die in diesem Paragraphen gefundenen Thatsachen lassen sich folgendermaassen zusammenfassen:

Alle Substanzen der Kerne sind in 10% Kochsalz löslich, sobald weder Säuren noch Gerbstoff anwesend sind.

Beim allmähligen Absterben der Zellen in der Kochsalzlösung sind die Kerne nicht löslich, ebenso verhalten sich die durch Wasser veränderten Kerne.

In 20 procentiger Kochsalzlösung sind Pyrenin und Amphipyrenin unlöslich und nicht quellbar, Linin und Paralinin verquellen, das Chromatin löst sich.

In gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia verhalten sich die Kernsubstanzen ebenso wie in der hochconcentrirten Kochsalzlösung, nur quillt das Paralin wenig, das Linin fast gar nicht.

In gesättigter Lösung von schwefelsaurem Ammoniak sind wahrscheinlich alle Substanzen bis auf das Chromatin unlöslich.

§ 21. Einwirkung von phosphorsauren Alkalien, Kalkwasser und freiem Alkali auf die Zellkerne.

Verhalten gegen KH_2PO_4.

Das Verhalten der Kernsubstanzen gegen Monokaliumphosphat wird wesentlich durch die Concentration dieses Reagenz beeinflusst. Bei 1 % werden sämmtliche Kerne unlöslich gemacht, wenn auch die einzelnen Strukturelemente nicht so scharf hervortreten. Auch bei längerem Verweilen in dieser Lösung bleiben die Kerne von *Phajus* und *Hyacinthus* unverändert, während bei *Pisum, Vicia sativa* Schrumpfung des Linins eintritt, so dass es hier zur Bildung einer centralen Vacuole kommt. (*Pisum sativum* Taf. IV, Fig. 145.) Wir werden im Folgenden sehen, dass die Entstehung dieser Vacuole wahrscheinlich durch das Hinweglösen der Grundsubstanz bedingt ist.

Bei einer 5 procentigen Lösung werden die Kerne partiell fixirt. Während das Chromatin in allen Kernen gelöst wird, sind die Kernkörperchen und die Membran unlöslich, ebenso die Gerüstsubstanz. Die letztere ist besonders anfangs nach dem Einlegen der Schnitte in die Lösung sehr deutlich, was wohl daher kommen mag, dass die zwischen den Fibrillen befindliche Grundsubstanz etwas quillt und jene auseinander drängt, während die Fibrillen selbst gar nicht oder nur unbedeutend quellen (Kern von *Vicia sativa*, Taf. IV, Fig. 146). Nach einiger Zeit schrumpfen die Fibrillen sehr bedeutend, und zwar bleiben sie in Verbindung mit der Kernmembran, so dass um das Kernkörperchen eine centrale Vacuole entsteht (*Vicia sativa*, Taf. IV, Fig. 149). Solche Centralvacuolen konnte ich regelmässig bei *Pisum, Lupinus, Vicia faba* und *sativa* beobachten. Die einzelnen Fibrillen bleiben hier also im Zusammenhang und schrumpfen ohne sich zu trennen.

Bei *Hyacinthus* nimmt diese Schrumpfung eine etwas andere Form an, indem hier einzelne Fibrillenstücke sich zu Kugeln zusammen ballen, während die Grundsubstanz das übrige Kernvolumen ausfüllt.

Bei *Phajus* schrumpfen die Fibrillen weniger, die Grundsubstanz ist hier ebenfalls unlöslich, weshalb der Kern hier sein ursprüngliches Aussehen behält bis auf das Fehlen der Chromatinkugeln, welche weggelöst werden und an deren Stelle Hohlräume vorhanden sind. Bei *Hyacinthus* und *Phajus*

sind also alle Kernsubstanzen (incl. der Grundsubstanz) in 5% KH_2PO_4 unlöslich bis auf das Chromatin. Bei den übrigen Kernen verhalten sich die Substanzen ganz gleich, nur für die Grundsubstanz kann man nicht ohne Weiteres die gleiche Unlöslichkeit annehmen. Es ist richtig, dass die Bildung einer centralen Vacuole ausschliesslich durch Schrumpfung der Kernsubstanz verursacht sein kann, wie dies z. B. häufig beim Fixiren vermittelst concentrirter Picrinsäure zu beobachten ist. In diesen Fällen ist die centrale Vacuole jedoch sehr klein, was darauf hindeutet, dass die Kernsubstanz ihr Volumen bei der Fällung nur sehr wenig vermindert. Dasselbe beobachten wir auch bei anderen Fällungsmitteln. Obgleich nun die 5procentige Lösung von KH_2PO_4 wenig wasserentziehend wirkt, so finden wir doch das Kernvolumen stark reducirt, was es mir wahrscheinlich macht, dass ein Theil der Kernstoffe in Lösung übergeht. Das Chromatin allein ist nur ein relativ kleiner Bruchtheil der Kernsubstanz, seine Lösung ist also nicht die eigentliche Ursache der Volumverminderung, zudem sehen wir auch bei *Lupinus,* wo nur wenig Chromatin vorhanden ist, dieselbe Zusammenziehung der Kernsubstanz eintreten. Ich glaube daher, dass noch eine andere Substanz und zwar die Grundsubstanz weggelöst wird. Beim Beginn der Wirkung des Monokaliumphosphates quillt die Grundsubstanz etwas, später ist sie nicht mehr zu beobachten. Die Quellung ist aber meist eine Vorstufe der beginnenden Lösung. Es ist mir daher wahrscheinlich, dass die Grundsubstanz bei gewissen Kernen löslich ist.

Die 20 proc. Lösung von KH_2PO_4 hat fast dieselbe Wirkung, wie die gleichconcentrirte Kochsalzlösung: die Kerne quellen etwas auf. Kernmembran und Nucleolen bleiben unlöslich, während die übrigen Substanzen eine homogene oder feinpunktirte Masse bilden. Bei *Vicia faba* sieht man anfangs noch kleine Chromatinkörnchen erhalten, sonst löst sich aber das Chromatin vollständig. Die Kerne werden in dieser hochconcentrirten Lösung sehr durchsichtig und selbst die Nucleolen heben sich nicht so scharf von der übrigen Masse ab. Es wäre daher leicht möglich, dass ein Theil der gequollenen Kernsubstanzen vollständig aus dem Kern hinweggelöst wäre; welche Substanzen dies sind, lässt sich nicht entscheiden.

Verhalten gegen Na_2HPO_4.

Das Dinatriumphosphat löst in den verschiedenen von mir angewendeten Concentrationen sämmtliche Kernsubstanzen auf. Die Kernmembran und das Kernkörperchen sind etwas widerstandsfähiger, werden aber schliesslich ebenfalls aufgenommen.

In der 1procentigen Lösung geht dem Verschwinden der Kerne ein Quellungsstadium voraus, die Kerne werden vollständig homogen, nur die Kernmembran und die Nucleolen bleiben noch erhalten. Bei *Phajus* und *Hyacinthus* erfolgt die Lösung der Kerne erst nach mehreren Stunden, bei den übrigen Pflanzen bald nach dem Einlegen der Schnitte in das Dinatriumphosphat. Immerhin dauert die Lösung etwas länger als wenn wir das

Salz in etwas höherer Concentration anwenden. Bei 5% erfolgt meist sofortige Lösung, nur bei *Phajus* dauert es etwas länger. Auch hier erweisen sich Kernmembran und Kernkörperchen als etwas schwerer löslich. Die gesättigte, d. h. 20procentige Lösung verhält sich wiederum wie die 1procentige. Vor dem Verschwinden der Kerne werden dieselben in eine sehr durchsichtige, oft feinpunktirte Masse verwandelt.

Die Geschwindigkeit, mit welcher das Dinatriumphosphat wirkt, ist von seiner Concentration abhängig, die Reaction bleibt jedoch dieselbe.

Verhalten gegen Kalkwasser.

Die Kerne in Kalkwasser gebracht, quellen alle sehr stark auf und vergrössern ihr Volumen. Die in destillirtem Wasser unlöslichen Kerne quellen etwas langsamer, sie werden zunächst mehr homogen glänzend, es kommt bei ihnen auch oft zur Bildung von Randvacuolen *(Hyacinthus, Vicia faba)*, was darauf hindeutet, dass ein Theil der Kernsubstanz in Lösung übergegangen ist. Nach längerer Einwirkung wird der Kern ganz homogen und nur der Nucleolus und die Kernmembran lösen sich nicht. Die beiden letzteren Substanzen werden jedoch ebenfalls von dem Kalkwasser angegriffen, sie quellen auf. Die weniger scharf contourirte Membran wird etwas dicker und ebenso vergrössert sich der Nucleolus, er wird zugleich vacuolig (vgl. *Vicia sativa,* Taf. IV, Fig. 148), was dafür spricht, dass er theilweise in Lösung übergegangen ist. Auf dem in Fig. 148 dargestellten Zustande verharren die Kerne der meisten Pflanzen und nur ausnahmsweise bei den sehr leicht löslichen Kernen von *Pisum sativum* platzt die Kernmembran, der Inhalt tritt aus. Theilweise löst sich bei *Pisum* auch die Membran, das Kernkörperchen verschwindet nur selten.

Die Reaction gegen Kalkwasser ist gewissen Modificationen unterworfen, die oft bei Kernen derselben Pflanze zu Tage treten, also wohl auf keine tiefergehende chemische Differenz hinweisen. So erscheint oft bei *Lupinus* der Kern statt homogen fein punktirt, die Lösung ist also unvollständig, die Kernmembran kann platzen, wobei dann vom Kern nur ein feiner Niederschlag zurück bleibt, der schliesslich jedoch auch gelöst wird. Bei *Hyacinthus* bleiben im Kern anfangs noch Chromatinkörnchen erhalten, die jedoch nach einiger Zeit ebenfalls verschwinden. Bei *Phajus* tritt die Membran weniger deutlich hervor, ausserdem ist hier das Chromatin besonders widerstandsfähig. Bei *Vicia faba* ist anfangs noch ein fibrilläres Gerüst im Kern sichtbar, dessen Hohlräume von einer helleren Flüssigkeit erfüllt sind. Sind die Zellen gerbstoffreich, kann die totale Lösung hier auch ganz unterbleiben.

Wie wir sehen, handelt es sich bei diesen Differenzen hauptsächlich nur um eine Beschränkung oder Verzögerung der Reaction, die für das Studium der chemischen Beschaffenheit des Zellkernes nicht von Belang sein kann.

Verhalten gegen Kalilauge.

Mit wenigen Ausnahmen bewirkt Kalilauge der verschiedensten Concentration totale Lösung der Kerne, es gilt dies sowohl von verdünnter als von hoch concentrirter Lauge. Die Menge des Kalis, welche zur Auflösung nothwendig, ist sehr gering, schon 0,1 % einer concentrirten Lauge genügt in den meisten Fällen. Die Kerne quellen zuerst auf, werden homogen, das Kernkörperchen bleibt anfangs noch erhalten, bis es später ebenfalls aufgenommen wird. Bei einem Theil der Pflanzen (*Phajus, Lupinus*) lösten sich die Nucleolen bei 0,1 % überhaupt noch nicht, es geschah dies erst, wenn man eine etwas weniger verdünnte Lauge anwendete, bei 1 % wurden jedoch auch die Nucleolen dieser Pflanzen gelöst. Bei *Lupinus* blieb in der 0,1 procentigen Lauge auch noch ein Theil des Linins in gequollenem Zustande zurück; sie zog sich von dem Nucleolus zurück, so dass eine centrale Vacuole gebildet wurde, trotzdem hier sicher keine Schrumpfung der Kernsubstanzen stattfand. Zur Erklärung dieser Vacuolenbildung müssen wir daher nothwendig die Lösung eines Theils der Kernsubstanz annehmen, wodurch das Volumen der übrig gebliebenen vermindert wurde.

In hochconcentrirter Kalilauge fand ebenfalls Lösung sämmtlicher Strukturelemente statt. Eine auffallende Ausnahme machten nur die sonst so leicht löslichen Kerne von *Pisum sativum*. In denselben (vgl. Taf. IV, Fig. 150) blieb nach Auflösung des Pyrenins und eines Theiles der übrigen Substanzen ein netzförmiges Gerüst zurück. Die Chromatinkörnchen waren ebenfalls verschwunden. Die ungelöste Substanz war sehr durchsichtig und hob sich nur wenig von der übrigen Kernmasse ab, sie glich ihrem Ansehen nach vollständig einer Gallerte, wie sie Eiweisskörper bei bestimmter Einwirkung des Alkalis ergeben. Etwas Aehnliches hat schon Sachs[1]) an Kernen von *Allium cepa* beobachtet, man darf diese Thatsache jedoch nicht, wie Sachs es gethan hat, verallgemeinern. Sobald nicht grössere Mengen von Gerbstoff vorhanden sind, erfolgt in den meisten Fällen auch in concentrirter Kalilauge vollständige Lösung.

Die Resultate dieses Paragraphen sind:

Das Monokaliumphosphat wirkt nur auf das Chromatin und wahrscheinlich auch auf das Paralinin lösend. Die anderen Kernsubstanzen werden gefällt.

In Dinatriumphosphat erfolgt vollständige Lösung aller Kernstoffe, das Pyrenin und das Amphipyrenin sind etwas schwerer löslich, gesättigte Lösungen haben hierbei dieselbe Wirkung, wie weniger concentrirte.

In Kalkwasser sind die Kernsubstanzen löslich oder stark quellbar bis auf das widerstandsfähigere Pyrenin und Amphipyrenin.

In Kalilauge erfolgt auch schon bei geringer Concentration

[1]) Beiträge zur Physiologie des Chlorophylls in Flora 1863.

totale Lösung. In hochconcentrirter Kalilauge kann ausserdem ein Theil des Kerns (wahrscheinlich das Linin) als Gallerte zurückbleiben, ohne sich zu lösen, meist jedoch ist auch hier die Lösung eine vollständige.

Alkalische Substanzen lösen das Chromatin relativ am leichtesten, während Nucleolus und Kernmembran etwas widerstandsfähiger sind.

§ 22. Einwirkung von freien Säuren auf die Zellkerne.

Jene Säuren, welche sämmtliche Proteinstoffe fällen, welche auch die Chlorophyllkörper vollständig fixiren (vgl. § 37), wirken in analoger Weise auch auf die Zellkerne. Ich habe dieselben im Folgenden nicht näher berücksichtigt und nur die Wirkung der Essigsäure und Salzsäure näher ins Auge gefasst.

Verhalten gegen Essigsäure.

Die sehr verdünnte Essigsäure, welche nur 0,2% Eisessig enthielt, wirkt durchwegs vollständig fixirend auf den Zellkern. Die Stoffe desselben sind hierin weder löslich, noch quellen sie auf. Wie bekannt, treten die Strukturen der Kerne deutlich hervor und wenn sehr substanzreiche, hellglänzende junge Kerne auch nicht sogleich nach der Berührung mit der Essigsäure Fibrillen und Körnchen aufweisen, so geschieht dies doch immer nach längerem Verweilen in der Lösung. Mit dieser Fällung aller Kernstoffe ist entweder gar keine oder nur eine geringe Schrumpfung verbunden. Im letzteren Falle kann es zur Bildung einer centralen Vacuole kommen (z. B. bei *Pisum, Vicia faba*). Meistens ist auch die Kernmembran sichtbar, sie hebt sich jedoch nicht so scharf ab, als in den früher erwähnten Fällen, wo der Kerninhalt verquollen ist, während die Membran intact bleibt.

Wenden wir eine etwas concentrirtere Essigsäure an, die 3% Eisessig enthielt, so bleibt die Wirkung auf das Chromatin, Linin und Paralinin fast dieselbe wie bei 0,2%; diese Stoffe sind unlöslich und nur sehr geringe Quellungserscheinungen machen sich geltend, indem die Fibrillen sich hie und da etwas verschieben können, oder wie bei *Phajus* sich auch zusammen ballen. Diese Veränderungen sind aber im Allgemeinen sehr gering.

Anders verhalten sich Pyrenin und Amphipyrenin. Beide Substanzen quellen in der 3procentigen Lösung auf. Die Quellung ist beschränkt, indem die Volumvergrösserung sich immer innerhalb gewisser Grenzen hält. Niemals wird durch die Quellung des Nucleolus die übrige Kernsubstanz auseinander gesprengt. Die Nucleolen werden sehr durchsichtig, so dass man sie ohne Färbung eventuell übersehen kann. Bei *Pisum* wurden sie vacuolig, während sie sonst homogen gequollen sind. Es wäre also wie bei *Pisum* möglich, dass ein Theil der Nucleolarsubstanz in Lösung übergehen könnte. Die

Quellung der Membran ist schwieriger zu beobachten, indem naturgemäss die Dickenzunahme eine geringe ist. Immerhin fällt es auf, dass die Membran deutlicher wird und sich besser von der übrigen Substanz abhebt als an den mit 0,2 procentiger Essigsäure behandelten Kernen. Die Quellung äussert sich in einer geringen Dickenzunahme der Membran, also geht die Quellung hauptsächlich in radialer Richtung vor sich; durch etwas bedeutendere Quellung in tangentialer Richtung müsste ja bei der geringen Quellbarkeit des Kerninhaltes entweder ein Abheben der Membran oder Faltenbildung eintreten, was niemals zu beobachten war.

Bei weiterer Steigerung der Concentration der Essigsäure erleiden auch die übrigen Substanzen des Kerns mit Ausnahme des Chromatins wesentliche Veränderungen. Ausser dem Nucleolus und der Membran quellen noch die Gerüst- und die Grundsubstanz, während die Chromatinkörnchen als mehr oder weniger scharf begrenzte unlösliche Körper zurückbleiben.

In 50 procentiger Essigsäure vergrössern die Kerne ihr Volumen, wenn auch in verschiedenem Grade. Zwischen den einzelnen Pflanzen machen sich quantitative Unterschiede geltend. Bei *Lupinus* und *Vicia sativa* sind die Kerne stark gequollen, sie werden ganz durchsichtig, von der Differenzirung in Fibrillen ist nichts mehr zu bemerken, ebenso ist das Kernkörperchen homogen durchsichtig geworden, die Membran ist undeutlich, dagegen sieht man noch einzelne Körnchen in der durchsichtigen Masse, es ist das Chromatin. Bei *Vicia faba*, *Hyacinthus* und *Phajus* (Taf. III, Fig. 112) bleiben die Fibrillen noch etwas sichtbar, wenn sie auch durch die eingetretene Quellung wesentlich undeutlicher werden. Bei *Hyacinthus* runden sich die spitzig geformten Kerne zumeist ab. Die Quellung ist bei diesen Pflanzen immer geringer als bei den zuerst genannten. Das Chromatin bleibt überall unverändert. Am wenigsten quellen die Kerne von *Pisum sativum,* bei welcher Pflanze die Hauptvolumzunahme auf den Nucleolus fällt.

Lassen wir schliesslich concentrirten Eisessig auf die Kerne wirken, so finden wir schon bald nach dem Einlegen oder wenigstens nach 1 bis 2 Stunden den ganzen Kern in eine durchsichtige Gallerte verwandelt. Die schon von der 50 procentigen Lösung leicht angreifbaren Kerne von *Lupinus* und *Vicia sativa* werden in dem Eisessig so homogen-durchsichtig, dass man sie für gelöst hält. Durch Alkoholzusatz oder durch Auswaschen mit Wasser kann man sich jedoch davon überzeugen, dass sie nur gequollen und sehr durchsichtig gemacht waren, von den einzelnen Strukturelementen ist nichts mehr zu sehen, auch das Chromatin ist im ganzen Kerne vertheilt, die einzelnen Körnchen sind nicht mehr sichtbar, trotzdem ist das Chromatin nicht vollständig gelöst, denn die Kerne vermögen noch Farbstoffe festzuhalten und werden auch bei der Tingirung nach Gram'scher Methode gut gefärbt. Bei den übrigen Pflanzen entsteht durch die concentrirte Säure zunächst ein körnig-fibrillärer Niederschlag, der sich allmählich in eine durchsichtige körnige Gallerte verwandelt. In dieser letzteren erkennt man den homogen gequollenen Nucleolus, das Chromatin bleibt auch bei diesen Kernen nicht

vollständig intact. Dies erkennt man am besten an den grossen Chromatinkugeln von *Phajus*, von denen eigentlich nur die Randparthien erhalten bleiben. Die Kernmembran ist zumeist nicht mehr deutlich sichtbar, blos bei *Phajus* war sie leicht zu erkennen, sie erschien auch hier deutlich porös.

Durch diese concentrirte Essigsäure wird schliesslich immer eine durchsichtige Gallerte gebildet und es liegt sehr nahe, diese Verwandlung mit der Bildung von Acidverbindungen in Zusammenhang zu bringen (Albuminid[1]), wie sie bei der Bildung von Acidalbumin aus Albuminen und Globulinen stattfindet. Diese Umwandlung kann bei der einen Pflanze etwas rascher erfolgen, als bei der anderen, aber sie ist das Endresultat bei allen Pflanzen. Von den einzelnen Stoffen des Kernes erweist sich das Chromatin als relativ am widerstandsfähigsten gegen die Säurewirkung.

Verhalten gegen Salzsäure.

Eine Flüssigkeit, welche nur 0,01% Salzsäure enthält, wirkt auf den Kern ganz wie destillirtes Wasser. Die im Wasser löslichen oder unlöslichen Kerne behalten ihre Eigenschaften in einer derartig verdünnten Salzsäurelösung bei.

Durch 0,1procentige Salzsäure werden die Kerne ziemlich vollständig fixirt. Alle Bestandtheile des Kernes sind unlöslich, oft findet gar keine Quellung statt und wo eine Volumvergrösserung eintritt, ist dieselbe gering und beschränkt sich auf den Nucleolus und die Grundsubstanz. Das Chromatin tritt mehr oder weniger deutlich hervor, quillt niemals. Das Verhalten der 0,1 proc. Salzsäure schliesst sich also dem der Essigsäure von 0,2% an, nur fixirt die erstere nicht so vollständig wie diese.

Zacharias[2]) beschreibt das Verhalten der *Phajus*kerne in 0,1 proc. Salzsäure in etwas anderer Weise. Derselbe sagt: „Werden frische Kerne unmittelbar mit 0,1 proc. Salzsäure behandelt, so quillt der Nucleolus, während die Körperchen sehr scharf hervortreten. Sie erfüllen das Innere des Kerns und sind einer Substanz eingebettet, die sich in ihrem Aussehen nicht von der den Kern umgebenden Flüssigkeit unterscheidet. Dort, wo sich der Nucleolus befand, ist ein kugeliger Raum von demselben Aussehen vorhanden. In der Peripherie des Kernes bilden dicht gelagerte Körperchen eine membranähnliche Schicht. Ausserhalb derselben erkennt man nur mit Mühe die etwas gequollene Kerntasche, in welche die Suspensionsfäden übergehen. Vermuthlich ist es diese Kerntasche, die bei der Quellung des Kernes in destillirtem Wasser die doppelt contourirte Membran darstellt."

Hierzu muss ich bemerken, dass die grossen „Körperchen" im Innern des Kernes, ebenso wie die dicht gelagerten Körperchen in der Peripherie desselben aus Chromatin bestehen; diese Substanz tritt, wie Zacharias richtig bemerkt, bei der Behandlung mit Salzsäure schärfer hervor. Dagegen

---

1) Vgl. auch die in § 38 citirten Angaben von A. Rollet.

2) Botan. Zeitung. 1882. p. 653.

ist es nur Zufall, dass bei den von Zacharias beobachteten Kernen die Chromatinkörnchen der Peripherie so dicht gelagert waren, dass sie eine membranähnliche Schicht bildeten, für gewöhnlich liegen sie viel weniger dicht. Ausserdem wäre diese Beobachtung ohne jede Analogie, da bei anderen Kernen nirgends eine membranartige Chromatinschicht beobachtet worden ist, die Kernmembran besteht vielmehr aus achromatischer Substanz. Jenes Gebilde, welches Zacharias als Kerntasche bezeichnet, ist die eigentliche Kernmembran, die an den von mir beobachteten Objecten ohne Schwierigkeit zu sehen war, ja man konnte sogar wahrnehmen, dass dieselbe aus dunkleren und helleren Theilchen bestand, welches Aussehen durch das Vorhandensein von Poren erklärt wird. Diese Kernmembran tritt wohl bei der Behandlung mit destillirtem Wasser deutlich hervor, Quellung des Kerns ist dazu jedoch nicht nothwendig, da dieselbe auch in Flemming'scher Lösung, also an fixirten Kernen deutlich zu sehen ist. Bei dem Nucleolus kann allerdings eine geringe Quellung eintreten, man darf jedoch nicht annehmen, dass er gelöst wird, wozu die etwas undeutliche Ausdrucksweise von Zacharias (an Stelle des Nucleolus sei ein kugeliger Raum von demselben Aussehen vorhanden) vielleicht Veranlassung bieten könnte. Jene Substanz, welcher die Chromatinkörper eingebettet sind, soll nach Zacharias nicht von der den Kern umgebenden Flüssigkeit zu unterscheiden sein. Es ist möglich, dass dies bei schwächerer Vergrösserung stattfand, mit der Oelimmersion erkannte man jedoch deutlich die vorhandenen Fibrillen, die einer homogenen Grundsubstanz eingelagert sind. Eine Volumzunahme der letzteren kann stattfinden, ist aber sehr gering.

Nach dem Gesagten glaube ich an meiner Behauptung festhalten zu können, dass alle Kernsubstanzen in einer 0,1 procentigen Salzsäure unlöslich sind.

Die 1proc. Salzsäure wirkt weitaus energischer auf die Kernsubstanzen ein, die Kerne quellen, die Volumvergrösserung differirt jedoch bei den einzelnen Pflanzen innerhalb ziemlich weiter Grenzen. So quellen die Kerne von *Pisum* fast gar nicht, die Kerne von *Vicia faba, Vicia sativa, Phajus, Hyacinthus* nur wenig, jene von *Lupinus* ziemlich stark. Diese Differenzen sind vorzugsweise bedingt durch die grössere oder geringere Quellbarkeit des Linins und Paralinins, theilweise auch durch das Verhalten des Nucleolus. Bei *Hyacinthus* und *Vicia faba* bleiben die Fibrillen auch in der Salzsäure ziemlich unverändert erhalten, nur die Grundsubstanz quillt etwas stärker. Durch das geringe Auseinandertreiben der Fibrillen werden dieselben besser sichtbar als sonst. Bei *Pisum,* wo die Grundsubstanz nicht quillt, sind die Kerne zwar fibrillär gefällt, aber die einzelnen Fibrillen sind nicht so deutlich. Bei *Phajus* vergrössern sich die Kerne, zugleich wurden die Fibrillen undeutlicher, Grundsubstanz und Fibrillen quellen gleichmässiger. Bei *Lupinus* und *Vicia sativa* endlich bilden die zwei genannten Substanzen eine homogene Masse ohne sichtbare Struktur (vgl. hierzu Taf. IV, Fig. 151a u. 151b). Bei *Vicia sativa* vergrössert sich das Kernvolumen anfangs nur wenig,

in dem Kern selbst treten die unlöslichen Chromatinkörnchen scharf hervor. Allmählig wird die Kernmasse trüber, sie quillt noch etwas auf, verliert ihre scharfe Begrenzung, bis schliesslich unter gleichzeitigem Verquellen des Chromatins der Kern in einen feinen, gallertartigen Niederschlag verwandelt wird (Taf. IV, Fig. 151c). Bei *Lupinus* werden die Kerne sehr durchsichtig, theilweise werden sie sogar gelöst. Man findet Stadien, wo der gelöste Kerninhalt nach dem Platzen der Membran ausgetreten ist, und die Membran zurückblieb. Das Chromatin blieb immer länger erhalten, bis es nach längerer Einwirkung auch nicht mehr nachzuweisen war.

Trotz dieses differenten Verhaltens von Fibrillen und Grundsubstanz zeigt das Chromatin bei den verschiedenen Pflanzen dieselben Reactionen. Es ist immer schwer löslich, quillt anfangs gar nicht, wird jedoch nach längerem Verweilen in der 1 proc. Salzsäure schliesslich zerstört. Ohne Färbung tritt es nicht immer gleich deutlich hervor, bei vollständig homogener Quellung der übrigen Substanzen werden die Chromatinkörnchen besser hervortreten, als wenn sie noch in wenig gequollenen Fibrillen eingeschlossen sind. Durch Färben kann man sich jedoch auch in diesen Fällen von ihrer Anwesenheit überzeugen. Die gewöhnlichen kleinen Chromatinkörnchen werden zunächst undeutlich und verschwinden schliesslich, die grossen Chromatinkugeln von *Phajus* werden zunächst im Innern vacuolig, während die peripherischen Theile noch erhalten bleiben.

In Bezug auf den Nucleolus ist die Entscheidung nicht ganz leicht. Bei allen Pflanzen quillt derselbe am Anfang homogen auf, er vergrössert sein Volumen in allen Fällen, auch z. B. bei *Pisum,* wo die übrige Kernsubstanz nicht quillt. Das Kernköperchen wird so durchsichtig, wie die den Kern umgebende Flüssigkeit. Bei *Lupinus* war er in Wirklichkeit gelöst, ebenso wahrscheinlich bei *Vicia sativa,* wo die übrige Kernsubstanz (Taf. IV, Fig. 151b) den Nucleolusraum bis zu ihrem Verquellen einschloss. Bei den übrigen untersuchten Pflanzen ist der Nucleolus zunächst nur gequollen und scheint erst bei längerer Salzsäurewirkung zu verschwinden.

Diesem Verhalten des Nucleolus schliesst sich die Kernmembran an, welche zuerst als homogene Hülle noch sichtbar ist, später aber verschwindet.

Betrachten wir die Lösungsverhältnisse einzelner Strukturelemente, namentlich des Chromatins, der Kernmembran und des Nucleolus, so erhalten wir die Ueberzeugung, dass bei längerer Zeit der Einwirkung chemische Zersetzungen stattfinden, denn sonst wäre die Thatsache nicht zu erklären, dass sich diese Substanzen anfangs wesentlich anders verhalten, als später. Die anfangs unlöslichen Substanzen werden mit der Zeit in lösliche verwandelt.

In 20 procentiger Salzsäure sind die Kerne unlöslich, sie quellen nicht, sondern können sogar etwas schrumpfen, wie bei *Phajus* oder bei *Pisum.* Im letzteren Falle entsteht durch Schrumpfung eine kleine Centralvacuole um das Kernkörperchen. Die einzelnen Strukturelemente sind anfangs meist deutlich wahrzunehmen, bei längerem Liegen wird die Struktur jedoch zerstört, wir erhalten einen feinkörnigen Niederschlag in der Form des Kernes.

Das Chromatin verhält sich wie in der 1procentigen Salzsäure. Die Nucleolen quellen in der concentrirteren Flüssigkeit weniger auf, wenn sie auch meist etwas homogener werden. Die Kernmembran ist erhalten, aber undeutlich.

Concentrirte Salzsäure wirkt energisch auf die Kerne ein. Dieselben werden zumeist in eine durchsichtige Gallerte verwandelt, die entweder, wie der Nucleolus, homogen erscheinen kann *(Pisum, Vicia faba),* oder sehr feinkörnig aussieht *(Vicia sativa, Hyacinthus, Lupinus).* Bei *Phajus* wurde manchmal der ganze Kern gelöst, oder es blieb ein ausserordentlich feines spongiöses, durchsichtiges Gerüst zurück, das bei längerem Liegen (20 Stunden) noch weiter an Deutlichkeit verloren hatte. Ausnahmsweise kann auch bei *Pisum,* namentlich in stark verletzten Zellen, der Kerninhalt gelöst werden. Die Membran ist relativ am widerstandsfähigsten, doch ist sie niemals scharf contourirt. Sie bleibt immer, ebenso wie das Kernkörperchen, homogen und ist besonders dann deutlich, wenn der Kerninhalt fein punktirt ist. Das Chromatin wird bald nach der Berührung mit der concentrirten Salzsäure zersetzt.

Zacharias untersuchte ebenfalls die Wirkung concentrirter Salzsäure auf die Kerne von *Phajus.* Er legte die Kerne zuerst in eine 0,1 procentige Salzsäure und verdrängte die verdünnte Säure durch concentrirte, oder liess concentrirte Salzsäure auf Alkoholmaterial einwirken. Er fand in beiden Fällen, dass der Kern unter Verquellung des Chromatins homogen wird und nun von einer doppelt contourirten Membran umgeben ist, welche dieselbe Lichtbrechung wie die Plasmatheile der Zelle zeigt. Diese Kernmembran soll wahrscheinlich mit der Kerntasche identisch sein, Beweise werden hierfür nicht gegeben.

Nach einiger Zeit erkennt man im Kern ein Netzwerk, welches die Nucleoli enthält, die Körperchen (das Chromatin) sind verschwunden. Liess Zacharias die Schnitte des Alkoholmaterials 48 Stunden in der concentrirten Säure liegen, so ist in den Zellen nach Zusatz von Jod in Jodkalium kein Inhalt mehr wahrzunehmen. — Ebenso gibt Strasburger an, dass an dem mit Alkohol fixirten, ruhenden Zellkerne aus dem protoplasmatischen Wandbelage von *Fritillaria imperialis* bei der Behandlung mit rauchender Salzsäure eine mässige Grössenzunahme eintritt, die Microsomen (unser Chromatin) schwinden, während das Hyaloplasmanetz und die Nucleolen nur wenig gequollen zurück bleiben. Auch die Kernwandung zeichnet sich bei dieser Behandlung nur schärfer.

Im Wesentlichen bestätigen meine Beobachtungen jene von Zacharias und Strasburger, die kleinen Differenzen dürften durch die vorhergehende Behandlung mit 0,1procentiger Säure und Alkohol hervorgerufen sein.

Aehnlich, wie bei der concentrirten Essigsäure, tritt auch durch die concentrirte Salzsäure Bildung von Acidverbindungen ein, die unter dem Mikroskop als Gallerten erscheinen, womit nicht ausgeschlossen ist, dass auch anderweitige Zersetzungen eintreten, welche sich der mikroskopischen Beobachtung entziehen.

Die Ergebnisse der Säurewirkung sind demnach:

Sehr verdünnte Säuren, 0,2% Essigsäure oder 0,1% Salzsäure fixiren die Kerne, die Kernsubstanzen sind unlöslich und nicht quellbar, nur in der verdünnten Salzsäure können Fibrillen und Grundsubstanz ihr Volumen etwas vergrössern.

Durch 3% Essigsäure werden Chromatin, Linin und Paralinin gefällt, Pyrenin und Amphipyrenin quellen etwas.

In 50proc. Essigsäure bleibt nur das Chromatin unverändert, die übrigen Substanzen quellen mehr oder weniger stark.

Durch Eisessig werden die Kerne in eine durchsichtige Gallerte verwandelt, auch das Chromatin wird im Kern vertheilt.

In 1proc. Salzsäure quellen Fibrillen und Grundsubstanz verschieden stark oder auch gar nicht. Das Chromatin ist anfangs immer unlöslich und unquellbar. Nucleolen und Membran quellen etwas, können sich schliesslich lösen.

In 20proc. Salzsäure sind die Kerne anfangs fixirt, werden unter Verlust der deutlichen Struktur feinkörnig, Nucleolen und Membran bleiben erhalten.

Concentrirte Salzsäure wirkt ähnlich wie Eisessig, manchmal werden die Kerne vollständig gelöst.

In freien Säuren ist das Chromatin der relativ widerstandsfähigste Körper, der jedoch durch hohe Concentrationen ebenfalls zersetzt wird. Membran und Kernkörperchen quellen bei geringerer Concentration leicht auf, können sich eventuell lösen.

§ 23. Einwirkung einiger Metallverbindungen auf die Zellkerne.

Bringt man dünne Schnitte in eine Mischung von Ferrocyankalium und Essigsäure, wie ich sie in der Einleitung (pag. 7) angegeben habe, so werden die Kerne und das Cytoplasma gefällt. Die Kerne sehen fibrillär-körnig aus wie bei anderen Fällungsmitteln. Bald nach dem Einlegen kann man jedoch beobachten, dass die Kernmasse etwas heller wird und dort, wo sich auch im ungefärbten Zustande die Chromatinkörnchen leicht erkennen lassen, kann man nun direkt unter dem Mikroskop verfolgen, dass das Chromatin sich vollständig löst. Die fibrilläre Struktur des Kerns erhält sich ziemlich lange, oft mehrere Stunden lang, während das Chromatin bald nach dem Einlegen verschwindet. Allmählich werden die Fibrillen undeutlicher, ohne jedoch gelöst zu werden und an Stelle der Fibrillen und Grundsubstanz finden wir nach längerem Verweilen in der Flüssigkeit einen feinkörnigen Niederschlag, die Masse schrumpft oft noch etwas, so dass um das Kernkörperchen eine centrale Vacuole entsteht. Bei *Phajus* (Taf. III, Fig. 111) sind die durch das Lösen der grossen Chromatinkugeln entstandenen Hohlräume leicht wahrzunehmen, bei feinerer Vertheilung des Chro-

matins ist es dagegen nothwendig, sich durch Färbung von der Abwesenheit des Chromatins zu überzeugen. Es ist vielleicht nothwendig, an dieser Stelle nochmals darauf hinzuweisen, dass nicht die einfache Aufnahme von Farbstoff für das Chromatin charakteristisch ist, sondern vielmehr die feste Fixirung des Farbstoffes, welche der Entfärbung einen so bedeutenden Widerstand entgegensetzt. Alle Theile des Protoplasmas nehmen Farbstoffe auf, daher färbt sich auch der Kern nach der Entfernung des Chromatins, wenn er in eine Anilinfarben- oder Carminlösung eingelegt wird, aber der Farbstoff kann leicht wieder ausgewaschen werden. Bei der Tinktion nach der Gram'schen Methode, wo nur das Chromatin und der Nucleolus gefärbt werden, kann man sich indessen von der Abwesenheit des Chromatins in den mit Ferrocyankalium und Essigsäure behandelten Kernen leicht überzeugen.

Die Nucleolen sind überall ungelöst, sie treten auch schon im ungefärbten Kern meist scharf hervor (vgl. Fig. 111), bei der Tinktion nach Gram färben sie sich ebenfalls, es wollte mir jedoch scheinen, als ob sie etwas weniger intensiv tingirt wären als vor der Behandlung mit Ferrocyankalium.

Die Kernmembran wird durch die Behandlung mit unserer Flüssigkeit sehr deutlich. Sie war besonders anfangs scharf contourirt, während bei längerem Liegen der Unterschied im Lichtbrechungsvermögen zwischen Kerninhalt und Kernmembran geringer, die Membran selbst also undeutlicher wurde.

Bei der hier besprochenen Reaction ist die Mischung des Ferrocyankaliums mit Essigsäure wesentlich, indem Ferrocyankalium allein (in 8 bis 10proc. Lösung) sämmtliche Kernsubstanzen löst, während bei Zusatz von Essigsäure nur das Chromatin verschwindet. Ferner darf man unsere Mischung nicht zu sehr mit Wasser verdünnen, da sonst die Lösung des Chromatins unterbleibt. Bei der Darstellung des Chromatins auf macrochemischen Wege dürfte demnach schon ein Verdünnen mit Wasser das gelöste Chromatin ausfällen.

Die ziemlich concentrirte Lösung von schwefelsaurem Kupfer wirkt ähnlich wie das eben besprochene Reagenz, nur dauert die Lösung des Chromatins etwas längere Zeit. Man muss die Schnitte mehrere Stunden lang in der Lösung liegen lassen, bevor das Chromatin vollständig verschwunden ist. Dafür bietet das schwefelsaure Kupfer den Vortheil, dass die Fibrillen deutlicher hervortreten und auch bei längerem Liegen unverändert bleiben. Die Fibrillen sind meist so vollständig fixirt, dass man in denselben noch kleine Hohlräume erkennen kann, die vor der Einwirkung des Reagenz mit chromatischer Substanz erfüllt waren. Ich habe (Taf. III, Fig. 116) den Versuch gemacht, einen Kern aus der jungen Blüthe von *Hyacinthus* möglichst naturgetreu zu zeichnen, der 5 Tage lang in dem schwefelsauren Kupfer gelegen hatte; nach der Zeichnung könnte man glauben, dass die Fibrillen körnig wären, Chromatinkörnchen sind jedoch nicht vorhanden. Die dunkleren Stellen in den Fibrillen sind jene Hohlräume, aus denen das Chromatin hinweggelöst wurde. Bei *Phajus*kernen erkennt man diese Hohlräume besser, da hier die Chromatinkörper sehr gross sind.

Die Kernkörperchen und die Kernmembran sind unlöslich, letztere ist nicht immer deutlich wahrzunehmen, z. B. bei *Hyacinthus, Vicia faba,* während sie in anderen Fällen sich gut von der übrigen Kernsubstanz unterscheiden lässt *(Lupinus, Vicia sativa, Pisum, Phajus).*

Das doppeltchromsaure Kali wurde früher vielfach zum Härten und Fixiren mikroskopischer Objecte verwendet, da es jedoch die Struktur nicht vollständig getreu erhält, hat man es in neuerer Zeit fallen lassen. Dasselbe wirkt nur bei geringerer Concentration fällend auf die protoplasmatischen Substanzen, bei höherer Concentration dagegen bleibt nur ein Theil der Substanzen unlöslich, die übrigen verquellen.

Im Kern quellen Linin und Paralinin sehr stark auf, während das Chromatin und das Amphipyrenin der Membran vollständig unlöslich bleiben. Die Membran wird namentlich sehr deutlich, da der Kerninhalt entweder das Aussehen einer Flüssigkeit annimmt oder ganz feinpunktirt durchsichtig wird. Oft konnte man auch die Poren der Membran wahrnehmen. Die Kernkörperchen sind nur unvollkommen löslich, sie zerfallen meist in einzelne Stücke oder verändern doch wenigstens ihre Gestalt.

Das von mir noch angewendete Ferrum solubile bietet zur Untersuchung des Kernes keine besonderen Vortheile, da die entstehenden Bilder nicht sehr deutlich sind. Die Kerne quellen auf, die Fibrillen bleiben noch mehr oder weniger erhalten, die unlösliche Kernmembran lässt sich gut von der übrigen Substanz unterscheiden. Eine Differenz macht sich auch zwischen Nucleolen und Chromatin geltend, indem die ersteren homogen quellen, jedoch nicht stark, das Chromatin dagegen löst sich langsam auf.

Die Resultate dieser Beobachtungen sind:

In angesäuerter Lösung von Ferrocyankalium, ebenso in schwefelsaurem Kupfer, löst sich das Chromatin, während sämmtliche übrigen Substanzen erhalten bleiben.

In concentrirter Lösung von doppeltchromsauren Kali ist das Chromatin und die Kernmembran vollständig, der Nucleolus partiell unlöslich, die Fibrillen und Grundsubstanz quellen gleichmässig auf.

In Ferrum solubile ist nur die Membran unlöslich, das Chromatin ist löslich, die übrigen Substanzen quellen.

Alle hier genannten Stoffe machen die Kernmembran deutlich.

Schwefelsaures Kupfer kann zum Fixiren des Kerns verwendet werden, da ausser dem Chromatin alle anderen Stoffe in ihrer Form erhalten bleiben.

§ 24. Einwirkung von Verdauungsfermenten auf die Zellkerne.

Verhalten gegen Trypsin.

Ueber die bei den Verdauungsversuchen angewendete Methode, sowie über die Zusammensetzung der Verdauungsflüssigkeit, habe ich schon in der

Einleitung (pag. 7) und im § 14 berichtet. Bei der Verdauung der Kerne wurde ebenfalls meist Alkoholmaterial verwendet, nur bei Kernen, die sich im Wasser nicht verändern, wurde mit frischem Material operirt. Die Alkoholbehandlung ist jedoch auch auf die Verdaubarkeit des Kernes ohne Einfluss. Wenn ich auch das Trypsin nach Kühne's Angabe zumeist bei einer Temperatur von 35—40° C. wirken liess, so gelangte ich doch zu denselben Resultaten, wenn ich bei Zimmertemperatur operirte, die Verdauungsprocesse verliefen im letzteren Falle nur etwas langsamer.

Durch das Trypsin werden die Kerne bei längerer Wirkung vollständig verdaut und gelöst. Die vollständige Lösung tritt meist erst nach 20—24 Stunden ein, manchmal sogar noch etwas später, es lässt sich dann weder bei nachträglicher Fixirung noch bei intensiver Färbung irgend ein Kernrest nachweisen. Man kann auch vorher tingirte Kerne der Verdauung unterwerfen, sie verschwinden allmählig vollständig.

Wenn nun auch der ganze Kern aus Proteinstoffen besteht, welche bei der Trypsinbehandlung verdaubar sind, so machen sich doch bei den einzelnen Kernstoffen in Bezug auf die Leichtigkeit der Verdaubarkeit weitgehende Differenzen geltend.

Das Chromatin ist durchgehends der am leichtesten verdaubare Körper, dasselbe verschwand schon 5—10 Minuten nach dem Einlegen der Schnitte in die Verdauungsflüssigkeit. Nur in Zellen, wo die Trypsinlösung langsamer eindringen konnte, blieb das Chromatin etwas länger erhalten. Wir können das Lösen des Chromatins direkt unter dem Mikroskop verfolgen, wenn wir mit Saffranin gefärbte Kerne der Verdauung unterwerfen. Die intensiv gefärbten Chromatinkörnchen schwinden, gleichzeitig wird der vorher roth gefärbte Kern gelblich. Die übrige Kernsubstanz bleibt auch nach der Lösung des Chromatins anfangs noch etwas gefärbt.

Interessant war das Verhalten des Chromatins in Kernen der Epidermis von blauen Hyacinthenblüthen (Taf. III, Fig. 117—120). Legt man die abgezogene Epidermis in verdünnte Salicylsäure von derselben Concentration (0,1 %) wie die Verdauungsflüssigkeit, so verändern sich die Kerne nicht weiter, wendet man dagegen die salicylsäurehaltige Trypsinlösung an, so werden sie schon bei gewöhnlicher Temperatur nach 10 Minuten heller, nach längerem Liegen werden sie jedoch so durchsichtig, dass man sie nur nach Fixirung mit Alkohol oder Flemming'scher Mischung wahrnehmen kann. Das circa 1 Stunde verdaute Object wurde mit Wasser abgespült, mit Flemming'scher Mischung fixirt, schliesslich nach der Gram'schen Methode gefärbt. Es stellte sich heraus, dass der Kern in seiner Form noch überall erhalten geblieben war. In den weitaus meisten Fällen war er jedoch so vollständig von allem Chromatin befreit, dass man ihn gleichsam als den Schatten des unverdauten Kernes bezeichnen konnte (Fig. 120). In einem kleineren Theil der Zellen war die Verdauung noch nicht so weit fortgeschritten, weshalb man gerade an diesen Zellen den Verlauf der Lösung des Chromatins gut verfolgen konnte. Das im normalen Zustande in dem

ganzen Kerngerüst enthaltene Chromatin war zu kleineren Tropfen zusammengelaufen, diese Tropfen waren entweder noch im Kerne angesammelt (Fig. 117) oder schon theilweise ausgetreten (Fig. 118) oder hatten sich neben dem farblosen Kerne als kugelförmiger Körper angesammelt (Fig. 119). Das Chromatin ist also in diesem Falle zunächst in eine löslichere Modification übergeführt worden, die jedoch noch die farbenspeichernden Eigenschaften des Chromatins bewahrt hatte. Bei den vollständiger verdauten Zellen waren diese zusammengelaufenen Kugeln nach der Fällung und Färbung nicht mehr zu sehen, woraus man wohl schliessen darf, dass das Chromatin vollständig umgewandelt wurde.

Diese Beobachtung stimmt mit den Erfahrungen der Chemiker überein, wonach bei der Verwandlung der Eiweissstoffe in Pepton zunächst leichter lösliche Zwischenglieder entstehen. Derartige Zwischenglieder zu beobachten, ist jedoch nicht immer möglich; besonders wenn man mit Alkohol fixirtes Material verdauen lässt, so werden zwar die Chromatinkugeln etwas grösser, sie quellen etwas auf, dann erfolgt jedoch Lösung.

Der bei der Trypsinverdauung nach kürzerer Zeit noch zurückbleibende Kernrest zeigt anfangs noch undeutliche Fibrillenstruktur, ebenso erhält sich der Nucleolus ziemlich lange, erst allmählich wird die Kernmasse gleichmässig durchsichtig und homogen, nur das Kernkörperchen bleibt noch sichtbar. Der letztere ist jedoch auch nicht mehr vollständig unverändert, was sich durch seine geringere Tinctionsfähigkeit kundgibt.

Zum Vergleich verdauter und nicht verdauter Kerne habe ich dieselben in beiden Zuständen nach Fixirung mit Flemming'scher Mischung und Färbung mit Methylviolett (nach Gram'scher Methode) abgebildet. Fig. 105, Taf. III stellt einen unverdauten Kern von *Phajus* dar, Fig. 106 einen Kern, welcher 1½ Stunden mit Trypsin behandelt worden war, Fig. 99 und Fig. 100, Taf. III geben dieselben Veränderungen wieder, wie sie sich an den Kernen aus dem Blatte von *Scilla maritima* beobachten lassen, Figur 99 ist der unveränderte, Fig. 100 der verdaute Kern.

Schliesslich möchte ich hierzu noch bemerken, dass die vorliegenden Veränderungen nur durch das Ferment bewirkt sein konnten, da eine schwach salicylsaure Lösung die Kerne niemals verändert, sie macht sie im Gegentheil unlöslicher in Wasser. Mit Alkohol fixirte Kerne bleiben auch nach Tage langem Verweilen in der verdünnten Salicylsäure unverändert. Da unsere Verdauungsflüssigkeit auf Lakmus schwach sauer reagirte, ist auserdem eine Lösung durch Alkalien ausgeschlossen. Bakterien hatten sich während der Versuchszeit nicht entwickelt, die Lösung der Kerne kann demnach auch nicht auf Fäulniss zurückgeführt werden.

Das Gesagte kurz zusammengefasst: Das Chromatin ist der in Trypsin am leichtesten verdaubare Stoff des Kerns, die übrigen Stoffe werden etwas schwerer verdaut, am langsamsten der Nucleolus.

Verhalten gegen Pepsin.

Die Verdaubarkeit pflanzlicher Zellkerne in schwach salzsaurer Pepsinlösung wurde schon von E. Zacharias näher untersucht. Er fand, dass die Hauptmasse des Kerns nicht verdaut wird, dass jedoch die bei der Verdauung zu Tage tretenden Erscheinungen darauf hinweisen, dass aus allen Formbestandtheilen des Kerns — Grundsubstanz, Chromatinkörperchen und Nucleolus — ein Theil durch die Pepsinwirkung hinweggelöst wird. Dieses Resultat stützt sich vor Allem auf die Untersuchung frischer Kerne aus *Phajus*wurzeln. Die von ihm früher untersuchten Kerne von *Tradescantia* und *Ranunculus* bezeichnet er als ungeeignet zur Entscheidung der Frage, in welcher Weise sich die durch ihre Reactionen unterscheidbaren Stoffe am Aufbau der einzelnen Formbestandtheile des Kerns betheiligen.

Da ich nicht alle Angaben von Zacharias bestätigen kann, ist es nothwendig, auf die von ihm angeführten Thatsachen, speciell die Untersuchung der Kerne von *Phajus* einzugehen.

Zacharias sagt: „Unterwirft man Schnitte aus frischen Wurzeln der Verdauung in künstlichem Magensaft, so werden die Körperchen (unser Chromatin) ungemein stark lichtbrechend und scharf contourirt, während Nucleoli und Zwischensubstanz ein etwas gequollenes blasses Aussehen erhalten, was auch bei den unverdaulichen Theilen des Protoplasmas der Fall ist. Im Nucleolus zeigen sich Theile verschiedener Lichtbrechung. Extrahirt man die Kerne nach der Verdauung mit absolutem Alkohol, behandelt sie dann vorsichtig mit einer schwach essigsauren Lösung von Methylgrün und untersucht in schwach essigsaurem, stark mit Wasser verdünntem Glycerin, so bleiben Zwischensubstanz und Nucleoli farblos, die Körperchen aber werden intensiv gefärbt. Sie sind nunmehr unregelmässig gestaltet, nähern sich aber häufig der Kugelform. Die grösseren zeigen eine blasige Beschaffenheit. Manche sind eckig und mit benachbarten durch feine gefärbte Fortsätze verbunden, andere scheinen hingegen isolirt zu liegen.

Verglichen mit gefärbten verdauten Kernen, zeigen gefärbte unverdaute ein bedeutenderes Volumen. Namentlich ist die ungefärbte Zwischensubstanz viel deutlicher und scheint substanzreicher zu sein, ferner tritt der Nucleolus schärfer hervor und sieht homogener aus. Auch die gefärbten Körperchen sind homogener und nähern sich meist mehr der Kugelgestalt. Es scheint somit durch den Magensaft ein Theil der Substanz des Kerns gelöst zu werden und zwar scheint diese in Magensaft lösliche Substanz in allen Theilen des Kerns vorhanden zu sein. Im Uebrigen besteht der Kern den beschriebenen Reactionen zu Folge aus Nuclein und Plastin (abgesehen von Stoffen, welche in Alkohol löslich sind). Das Nuclein gehört den Körperchen an, das Plastin der Zwischensubstanz und den Nucleolen."

Ohne an dieser Stelle auf den Vergleich der Kernstoffe mit anderweitig gewonnenen Substanzen wie Nuclein und Plastin einzugehen, möchte ich zunächst bestätigen, dass die von Zacharias direkt beobachteten That-

sachen für den vorliegenden Fall im Wesentlichen richtig sind, dass man sie aber nicht ohne Weiteres verallgemeinern darf.

Abgesehen hiervon ist Zacharias den Beweis schuldig geblieben, dass die beobachteten Veränderungen wirklich nur durch die Pepsinverdauung entstanden sind, und nicht etwa durch die längere Einwirkung der verdünnten Salzsäure bei höherer Temperatur.

Die Chromatinkugeln sind anfangs compact, treten beim Einlegen in die Verdauungsflüssigkeit scharf hervor, nach längerem Verweilen darin, namentlich bei 35—40° C., werden diese Kugeln sehr häufig, aber nicht immer partiell zerstört, es entstehen in denselben hellere Räume (Taf. III, Fig. 107), ja die Kugeln können sogar ganz zerfallen. Solche Veränderungen können sich bei 45° C. schon nach 1 Stunde bemerkbar machen, während sie bei Zimmertemperatur erst nach mehreren Stunden auftreten. Ganz dieselben Umwandlungen sind aber auch zu beobachten, wenn wir die Schnitte längere Zeit in einer 0,2 proc. Salzsäurelösung ohne Pepsinzusatz bei höherer Temperatur verweilen lassen. Die Chromatinkörper werden also nicht eigentlich verdaut, sondern in ähnlicher Weise wie durch concentrirtere Salzsäure in kurzer Zeit durch die verdünnte Salzsäure in längerer Zeit und bei höherer Temperatur zersetzt, als Verdauung kann man dies jedoch nicht bezeichnen.

Was die partielle Verdaubarkeit der Grundsubstanz (im Sinne von Zacharias) anbelangt, so möchte ich zunächst bemerken, dass Zacharias hiermit sowohl die als Fibrillen differenzirten Theile, als die zwischen den Fibrillen befindliche Substanz — die Grundsubstanz in unserem Sinne — zusammenfasst. Die Kerne verkleinern ihr Volumen, wie Zacharias richtig angibt, unter dem Einfluss der Verdauungsflüssigkeit. Ich konnte direkt beobachten, wie in einzelnen Fällen aus verdauten Kernen hellglänzende Tropfen ausgetreten waren (Taf. III, Fig. 108), obgleich noch in dem Kernrest Fibrillen, wenn auch undeutlich, zu erkennen waren. Beim Beginn der Verdauung bleiben auch die Fibrillen noch sichtbar, während die Zwischensubstanz heller und heller wird. Aus alledem schliesse ich, dass nicht die Fibrillen die eigentlich verdaubare Substanz bilden, sondern vielmehr die Grundsubstanz.

Der Nucleolus wird bei *Phajus* durch das Einlegen in die Pepsin-Salzsäurelösung sehr durchsichtig, er verliert auch an Tinctionsfähigkeit [1]), die vorhandenen Unterschiede sind jedoch nicht durch die Pepsinlösung, sondern durch die Salzsäurewirkung bedingt.

Nach dem Gesagten wäre also sowohl das Chromatin als die Fibrillen, als der Nucleolus vollständig unverdaubar und nur die zwischen den Fibrillen befindliche Grundsubstanz würde gelöst. Dagegen wären sowohl Chromatin als Nucleolus partiell zersetzbar durch die längere Einwirkung der verdünnten Salzsäure.

---

1) Gefärbt nach Gram'scher Methode.

Dieses Resultat ist nicht ohne Weiteres zu verallgemeinern, das Chromatin erwies sich durchweg als unverdaubar, zeigte sich jedoch in den übrigen von mir untersuchten Fällen bedeutend widerstandsfähiger gegen die verdünnte Salzsäure. Bei Verdauungsversuchen, die bis zu 24 Stunden dauerten, veränderten sich die Chromatineinlagerungen nicht im Mindesten. Ein sehr geeignetes Object, um die bei *Phajus* gefundenen Thatsachen zu controlliren, bieten uns die Kerne aus den Blättern von *Cymbidium aloefolium*. Es kommen dort (vgl. Taf. III, Fig. 98) ähnliche grosse Chromatinkugeln vor wie bei *Phajus*. Dieselben werden hier jedoch nicht angegriffen, werden nicht vacuolig und zerfallen niemals. Ebenso blieben die kleinen Chromatinkörnchen von *Impatiens parviflora* (junger Stengel, Längsschnitt) und von *Tradescantia virginica* (Blattepidermis) intact.

§ 25. Hinweis auf die Methoden zur Sichtbarmachung der Strukturelemente in den Zellkernen.

Zur Feststellung der Lagerungsverhältnisse und Vertheilung der einzelnen Strukturelemente im Kerne wird die Beobachtung an fixirtem und gefärbtem Material immerhin den besten Aufschluss geben. Zur Unterscheidung der einzelnen Strukturtheile ist diese Methode jedoch nicht ausreichend. Das Chromatin lässt sich ja wohl sehr leicht unterscheiden, aber schon die Trennung von Chromatin und Nucleolarsubstanz stösst bei fixirtem und gefärbtem Material auf Schwierigkeiten, daher bietet in solchen Fällen meine Methode der partiellen Lösung eine nothwendige Ergänzung der bisherigen mikroskopischen Methoden.

Handelt es sich darum, das Chromatin allein zu entfernen, die übrige Substanz zu fixiren, so verdient das schwefelsaure Kupfer den Vorzug vor den anderen Reagentien, indem die übrigen Strukturelemente vollständig in ihrer ursprünglichen Form festgehalten werden. Es dürfte sich diese Methode auch bei dem Studium der Kerntheilungsvorgänge bewähren, wenn es sich um die Untersuchung der sog. achromatischen Substanz handelt.

Die Mischung von Ferrocyankalium und Essigsäure löst ebenfalls nur das Chromatin, fällt die übrigen Stoffe, es treten hier jedoch nachträglich Quellungserscheinungen auf, welche dies Reagenz zur Fixirung nicht geeignet erscheinen lassen.

Die Unterscheidung von Chromatin und Pyrenin, den beiden intensiv färbbaren Substanzen des Kerns, ist durch eine Reihe von Reagentien möglich. Schon das Einbringen verletzter Zellen in Wasser genügt in sehr vielen Fällen, jedoch nicht in allen. Es ist daher die Behandlung mit 20 procentiger Kochsalzlösung, Kalkwasser (Chromatin löslich — Pyrenin unlöslich) vorzuziehen, ebenso treten die Differenzen deutlich hervor in 50 procentiger Essigsäure und in concentrirter Lösung von doppelchromsaurem Kali, in welchen Substanzen das Chromatin erhalten bleibt, die Kernkörperchensubstanz verschwindet.

Die Kernmembran wird durch dieselben Reagentien deutlich gemacht, wie der Nucleolus. Es kommt hierbei hauptsächlich darauf an, die Gerüst- und Grundsubstanz zum Quellen zu bringen, und die Membran und Nucleolen ungelöst zu erhalten, die sonst geringen Lichtbrechungsdifferenzen zwischen Membran und Kernhalt werden dann vergrössert, die Membran deutlicher. Es gelingt das häufig schon durch die Einwirkung von Wasser, besser jedoch durch 20 procentige Lösung von Kochsalz oder von Monokaliumphosphat, durch doppelchromsaures Kali, Ferrocyankalium, Essigsäure und häufig auch durch Kalkwasser.

Die Unterscheidung von Gerüstsubstanz und Grundsubstanz ist schwierig, sie gelingt noch am besten durch gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia (nicht immer) und durch 1—5 procentige Lösung von Monokaliumphosphat.

Das Nähere hierüber ist in den betreffenden Paragraphen dieses Kapitels nachzusehen.

Kapitel IV.

Cytoplasma.

§. 26. Die Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen des Cytoplasmas in chemischer Beziehung.

Die bei der Untersuchung des Cytoplasmas maassgebenden Gesichtspunkte sind dieselben wie bei Chlorophyllkörpern und Zellkernen. Wir haben uns die Frage vorzulegen, besteht auch das Cytoplasma aus verschiedenartigen Proteinstoffen, wie wir dies bei oben genannten Gebilden nachgewiesen haben oder ist eine derartige Differenzirung nicht vorhanden? Können wir ein aus Fäden und einzelnen Balken bestehendes Gerüst von specifischer chemischer Beschaffenheit unterscheiden oder bildet das Cytoplasma eine einfache Mischung oder Emulsion verschiedenartiger Substanzen? Speciell ist auch zu berücksichtigen, ob die Grenzschichten des Cytoplasmas nach Innen und Aussen (Plasmamembran und Vacuolenwand) eine besondere chemische Zusammensetzung aufweisen oder nicht. Hieran schliesst sich die Frage: durch welche Reactionen unterscheidet sich das Cytoplasma von den übrigen Gebilden?

Reinke[1]) und Rodewald haben für *Aethalium septicum* nachgewiesen, dass das Protoplasma dieses Schleimpilzes eine grosse Menge sehr verschiedenartiger Stoffe enthält. Ohne die einzelnen Stoffe aufzuzählen, möchte ich als wesentlich hervorheben, dass es Reinke[2]) gelungen ist, das Protoplasma von *Aethalium,* das hauptsächlich aus Cytoplasma besteht, durch Auspressen in eine festere Gerüstsubstanz und in eine abpressbare Flüssigkeit zu zerlegen. Die letztere bezeichnet Reinke mit dem Hanstein'schen Ausdruck Enchylema, obwohl beiläufig bemerkt, sich diese Ausdrücke bei Reinke und Hanstein[3]) nicht vollständig decken.

Reinke[4]) stellt sich diese Vereinigung von festerer und flüssiger Substanz folgendermaassen vor: „Gerüstsubstanz und Enchylema bilden ein inniges Gemenge mit einander, wobei jedoch die Gerüstsubstanz keineswegs etwa

---

[1]) Studien über das Protoplasma 1881.
[2]) l. c. p. 9.
[3]) J. v. Hanstein, Das Protoplasma 1880. p. 39.
[4]) l. c. p. 9 u. 10.

aus lauter kleinen gesonderten Partikeln besteht, wie die rothen Blutkörperchen im Blute, oder die Fettkügelchen in der Milch, sondern es geben sich hinreichende Gesichtspunkte für die Annahme, dass dieselbe einerseits die oberflächliche Hautschicht des Plasmaleibes darstellt, andererseits diesen letzteren nach allen Richtungen als ein festes, aber doch plastisches und contractiles Continuum durchsetzt in netzartigen Anastomosen. Es dürfte dies Gerüst, dessen Maschen wegen der Plasticität der Maschen unausgesetzter Grössen- und Formänderungen fähig sind, mit der Substanz eines Badeschwammes zu vergleichen sein; wie dieser letztere sich voll Wasser zu saugen vermag, so sind die Zwischenräume der Gerüstsubstanz des Protoplasmas von Enchylema erfüllt.“

Reinke führt für seine Auffassung, dass die Gerüstsubstanz des Protoplasmas aus einem netzartig anastomosirenden Continuum feiner Fäden und Platten besteht, den Umstand an, dass es bei dem Protoplasma nicht wie z. B. an der Milch gelingt, durch eine kräftige Centrifuge die feste und flüssige Substanz zu sondern. Ich halte dies jedoch nicht für beweiskräftig, da auch bei homogener Mischung von Gerüstsubstanz und Enchylema keine Trennung durch die Centrifuge erfolgen muss. Ausserdem weist Reinke auf die Arbeiten von Frommann und Schmitz hin, deren Resultate, wie wir weiter unten zeigen werden, ebenfalls nicht richtig sind.

Wenn ich diese Ansicht Reinkes über die Vertheilung von fester und flüssiger Substanz auch nicht acceptiren kann, so verkenne ich doch keineswegs den eigentlichen Werth seiner Untersuchungen, welche in der Bestimmung der chemischen Eigenschaften von Gerüstsubstanz und Enchylema liegen.

Die Gerüstsubstanz besteht zum grossen Theil aus einem specifischen Proteinstoff, dem sog. Plastin, welcher sich nach Reinke in seinen Löslichkeitsverhältnissen den Fibrinen anreihen lässt, sich jedoch von diesen durch seine Unverdaubarkeit in Pepsin unterscheidet. Ausserdem kommen in dem Gerüst wahrscheinlich noch feste Fettsäuren, Lecithin, Cholesterin, Harz und andere Körper vor.

Das Enchylema enthält dagegen alle in Wasser oder in schwach alkalischer Lösung aufnehmbaren Stoffe und ausser Kohlenhydraten, Säureamiden, organischen Säuren auch noch coagulirbare Eiweissstoffe und Pepton.

Die Untersuchungen von Reinke haben für uns ein besonderes Interesse, weil sie uns neue Gesichtspunkte zur Betrachtung des Cytoplasmas der höheren Pflanzen gewähren. Dabei müssen wir jedoch in erster Linie berücksichtigen, dass hier die Absonderung des Zellsaftes stattgefunden hat, welch' letzterer viele Stoffe in sich aufnimmt, die bei dem Plasmodium des Schleimpilzes noch nicht gesondert sind. Nichtsdestoweniger besteht, wie wir später sehen werden, auch das Cytoplasma der höheren Pflanzen aus einer festeren Substanz, welche dem Plastin Reinkes nahe steht und aus einem flüssigen Theile, welcher verschiedene lösliche Stoffe enthält.

Den Plastingehalt des Cytoplasmas höherer Pflanzen hat schon E. Zacha-

rias[1]) nachgewiesen. Zacharias nimmt an[2]), dass im Protoplasma der Zellen (unserem Cytoplasma) die Eiweissstoffe quantitativ gegen das Plastin ausserordentlich zurücktreten, hier vielleicht sogar ganz fehlen. Als Plastin wird von Zacharias jener Körper bezeichnet, der wie das Nuclein bei der Pepsinverdauung in saurer Lösung erhalten bleibt, ausserdem jedoch noch unlöslich ist in 10procentiger Kochsalzlösung, in verdünnter und concentrirter Salzsäure.

Zacharias glaubt nun, dass das Plastin sowohl im Zellkern als im Cytoplasma vorkommt und hierin liegt jedenfalls eine Confundirung zweier verschiedener Stoffe. Das Plastin soll im Kerne der Zwischensubstanz angehören, diese Zwischensubstanz des Kerns zeigt aber wesentlich andere Reactionen (vgl. Kap. V, § 36) als das Plastin des Cytoplasmas, und die von Zacharias angeführten Reactionen genügten keineswegs, die Identität beider Stoffe zu beweisen.

Die Behauptung, dass das Cytoplasma in den ausgewachsenen Zellen kein oder doch nur sehr wenig Eiweiss enthält, begründet Zacharias durch das Verhalten des Cytoplasmas gegen Blutlaugensalz[3]), was jedoch nach unserer Ansicht nicht einwandsfrei ist. Die zu untersuchenden Schnitte wurden nach einem schon von Th. Hartig angegebenen Verfahren in eine essigsaure Lösung von gelbem Blutlaugensalz getaucht, nach einstündigem Liegen in derselben werden die Schnitte mit Alkohol von circa 60 Volumprocent ausgewaschen und schliesslich in eine verdünnte Lösung von Eisenchlorid eingelegt. Das Cytoplasma mit Ausnahme mancher grösserer Microsomen bleibt farblos, während die Stärkebildner, Chlorophyllkörper und Zellkerne sich blau färben. Zacharias hat nun in derselben Weise wässerige Lösung von Hühnereiweiss behandelt und gefunden, dass der entstandene Niederschlag sich in ähnlicher Weise blau färbt wie die oben genannten Gebilde. Aus dieser Reaction die Identität der Stoffe zu schliessen ist sehr misslich, auch wenn sie noch durch eine andere Reaction wie z. B. die Pepsinverdauung gestützt würde. Nach meiner Ansicht handelt es sich in erster Linie um die Speicherung des Blutlaugensalzes, das ganz so wie ein beliebiger Anilinfarbstoff fixirt wird. Der Kern speichert ebenso wie die Chlorophyllkörper und Stärkebildner, sowohl Farbstoffe als andere gelöste Substanzen in höherem Grade, als das Cytoplasma. So kann man auch die Zelle z. B. mit Molybdänsäure oder mit verdünnter Gerbstofflösung behandeln, auswaschen und Eisensalze zusetzen, wir werden immer in ersterem Fall die blaue, im letzteren Fall die schwarze Farbe im Kern am intensivsten auftreten sehen, in den übrigen Gebilden relativ schwächer, am geringsten im Cytoplasma. Das Festhalten von Ferrocyankalium ist also nur ein specieller Fall des relativ verschiedenen Speicherungsvermögens der plasmatischen Bestandtheile der Zelle. Nach der Darstellung bei Zacharias

1) Ueber Eiweiss, Nuclein und Plastin. Bot. Zeitung 1883. p. 209 ff.

2) l. c. p. 211.

3) Schon früher von Th. Hartig, bot. Zeitung 1854 angegeben.

ist man geneigt zu glauben, die Differenzen in der Blaufärbung von Chlorophyllkörpern und Stärkebildnern einerseits und Cytoplasma andererseits seien sehr grosse, dies ist jedoch nicht der Fall, auch wenn man nur kurze Zeit mit Alkohol auswäscht, um nicht zuviel Ferrocyankalium zu entfernen. Die Differenzen in der Färbung gleichen jenen bei Zusatz von Anilinfarbstoffen. Der Umstand, dass der Niederschlag von Hühnereiweiss ebenfalls Ferrocyankalium speichert, beweist nichts, da z. B. auch von Nucleinniederschlägen (vgl. Gierke's Untersuchungen über Färbungsmethoden) Farbstoffe und daher wohl auch Ferrocyankalium festgehalten werden.

Meine Ansicht geht also dahin, dass diese Blutlaugensalzreaction nicht zu positiven Schlüssen über die Anwesenheit von Eiweisskörpern berechtigt, d. h. von Stoffen, welche den Albuminen verwandt sind.

Es wäre eher noch zulässig, aus dem Fehlen einer Blaufärbung auf die Abwesenheit eines Albuminstoffes zu schliessen. Die von O. Loew[1]) dagegen gemachten Bedenken sind, wie schon E. Zacharias[2]) in seiner Erwiderung gezeigt, nicht stichhaltig. Wenn nach der vorherigen Behandlung mit verdünnter Kalilauge die Blutlaugensalzreaction auch an dem Cytoplasma, resp. an dem Plastin eintritt, so liegt die Annahme wohl am nächsten, dass eine Zersetzung des Plastins durch die Kalilauge stattgefunden hat. Zacharias sagt mit Recht: „Die Hindernisse für das Eintreten der Blutlaugensalzreaction in dem Protoplasma der untersuchten Zellen bestehen eben darin, dass dieses Protoplasma im Wesentlichen aus Plastin besteht, und das Plastin eine Substanz ist, welche sich in ihren Reactionen von den Stoffen unterscheidet, die man als Eiweissstoff zu bezeichnen pflegt.

Auf Grund einer anderen Reaction kam auch Sachs[3]) zu dem Schluss, dass in den Parenchymzellen nach der Streckung die Eiweissstoffe verschwinden. Sachs verwendete das unter dem Namen der Biuretreaction bekannte Verhalten der Eiweisskörper gegen schwefelsaures Kupfer und Kalilauge zur Entscheidung der Frage, ob in den Zellen Eiweiss vorhanden sei, oder nicht. Die Schnitte wurden in der Lösung von schwefelsaurem Kupfer 2—10 Minuten liegen gelassen, kurz abgespült und in concentrirte Kalilauge gebracht. Die den Eiweisskörpern entsprechende Violettfärbung trat ausser in den Cotyledonen oder dem Endosperm, solange diese noch nicht ausgesogen sind, nur in dem Urmeristem der Knospen und Wurzelspitzen auf, ferner in dem Siebtheil des Phloëms (Leitzellen, Gitterzellen, Cambiformzellen wie das Original sagt). Bei der Streckung des Parenchyms verschwindet die Reaction. Wenn nun auch nicht von Sachs speciell erwähnt wird, in welchen Theilen der Zelle die Färbung auftritt, so geht doch daraus hervor, dass in den erwachsenen Zellen, bis auf jene Zellen, die zur Leitung von plastischen Stoffen dienen, sowohl Protoplasma als

---

1) Bot. Zeitung 1884, p. 273.
2) Bot. Zeitung 1884, p. 389.
3) Flora 1862, p. 290 und 297.

Zellsaft keinen Proteinstoff enthalten, der die Biuretreaction aufweist, also auch keine, den Albuminen und Globulinen entsprechenden Stoffe.

Fraglich muss hierbei nur erscheinen, ob die in einem mikroskopischen Schnitt vorhandene Eiweissmenge immer ausreicht, um eine Färbung zu ergeben. Es wäre demnach wohl möglich, dass man besonders, wo es sich um sehr dünne Flüssigkeitsschichten handelt, einen geringen Eiweissgehalt im Protoplasma übersehen könnte. Ausserdem ist es keineswegs sicher, dass alle Eiweisskörper die Biuretreaction zeigen.

In jenen Theilen der Pflanzen, welche eine Violettfärbung ergeben, ist dieser Eiweissstoff, wie ich mich durch eigene Untersuchungen überzeugte, in der ganzen Zelle vorhanden, sowohl im Zellsaft, als im Protoplasma, hierbei ist jedoch noch zu bemerken, dass der Kern immer stärker gefärbt wird, als das Cytoplasma, und auch in etwas älteren Zellen, wo Cytoplasma und Zellsaft keine Biuretreaction mehr zeigen, ist der Kern noch schwach roth-violett tingirt. Es ist möglich diese Thatsachen zu verfolgen, wenn man die Schnitte nach der Behandlung mit schwefelsaurem Kupfer in hoch concentrirte Kalilauge einträgt, da in der letzteren die einzelnen Zellgebilde erhalten bleiben, während sie in verdünnter Kalilauge verquellen.

Betrachten wir einerseits das Vorkommen des Stoffes, welcher die Biuretreaction gibt, in allen Theilen der Zelle, auch im Zellsaft, andererseits die Gewebe, in denen die Reaction auftritt, so müssen wir zu der Ueberzeugung kommen, dass dieser Eiweissstoff ein Reservestoff ist, der in den Samen aufgespeichert wird, von dort durch das Leitgewebe zu den Vegetationspunkten geschafft wird und hier zum Aufbau des Protoplasmas verwendet wird. Die Kohlenhydrate zeigen ein analoges Verhalten und ich glaube daher, dass jene Substanz direkt als ein metaplasmatischer Stoff anzusprechen ist. Nach den vorliegenden Untersuchungen ist übrigens gar nicht zu entscheiden, ob die Reaction durch Eiweiss oder durch Pepton hervorgerufen wird.

Ausser den soeben angeführten Thatsachen besitzen wir noch zahlreiche einzelne Angaben über das chemische Verhalten des Cytoplasmas, so über das Verhalten gegen Säuren, Neutralsalze, Metallverbindungen, Alkalien, Alkohol etc., welche sich auf das gesammte Cytoplasma beziehen, ohne dass sie zur Entscheidung der am Eingange dieses Paragraphen aufgeworfenen Fragen verwendet worden wären. Die meisten dieser Reactionen lassen sich auf die Eigenschaften des Plastins zurückführen. Ich werde dieselben erst bei der Einwirkung der verschiedenen Stoffe auf das Cytoplasma näher besprechen.

Wenn wir demnach über die Beschaffenheit des Plastins im Cytoplasma der höheren Pflanzen schon besser unterrichtet sind, so ist die Vertheilung und die Beschaffenheit des Enchylems noch sehr wenig erörtert. Wir wissen, dass sich der Zellsaft absondert vom Cytoplasma, können aber nach den vorliegenden Thatsachen nicht entscheiden, ob dem Cytoplasma noch ein

specifisches Enchylem eigen ist, und ob dieses Cytochylem (vgl. Strasburger[1]) identisch ist mit dem Zellsaft. Wenn es auf mikroskopischem Wege auch nicht möglich ist die Bestandtheile dieses Cytochylems nachzuweisen, so können wir doch einige bestimmte Fragen erledigen, ob dieses Cytochylem z. B. Proteinstoffe enthält, ob es bei der Bildung der Plasmamembranen mitwirkt, ob es alkalische oder saure Reaction zeigt etc. Zu einer näheren Untersuchung reichen jedoch die uns bisher zu Gebote stehenden Methoden nicht aus.

§ 27. Die Struktur des Cytoplasmas.

Die Art und Weise, wie man sich die Vertheilung von fester und flüssiger Substanz im Cytoplasma vorzustellen hat, ist noch keineswegs entschieden. Im Grunde genommen stehen sich jedoch nur zwei verschiedene Ansichten gegenüber.

Erstens das Protoplasma bildet eine homogene Substanz, in welcher meist in bestimmten Schichten körnige Gebilde abgelagert sind. Die körnchenfreien Schichten bilden die Begrenzung des Cytoplasmas sowohl nach aussen als nach innen, dem Zellsaft zu. Dementsprechend hat man zu unterscheiden zwischen Hyaloplasma oder Hautplasma (Pfeffer) oder Hautschicht (Pringsheim) einerseits und Körnchenplasma (Strasburger) oder Körnchenschicht (Pringsheim) oder Polioplasma (Naegeli) andererseits.

Nach der anderen Auffassung bildet das Körnerplasma ein Gerüst, oder im einfachsten Falle ein Netz aus anastomosirenden Fäden und Balken, desgleichen besitzt das Hyaloplasma eine ähnliche Struktur, nur dass hier die Maschen des Netzes enger, die feinsten Fäden einander näher gerückt sind. Die Körnchen sind theilweise oder in ihrer Gesammtheit nur die dichter erscheinenden Knotenpunkte des Gerüstes.

Eine vermittelnde Stellung nimmt Flemming ein, er stimmt der Ansicht vom gerüstartigen Bau der Zellsubstanz nur in sofern zu, als er die Existenz von Fäden und Fadenwerken zugibt, die jedoch in einer homogenen strukturlosen Grundmasse liegen und wesentliche Verschiedenheiten bei den differenten Organen und Zellen aufweisen.

Die erst genannte Ansicht wurde schon von Max Schultze und Pringsheim aufgestellt, von Nägeli, Pfeffer, in seinen früheren Arbeiten auch von Strasburger acceptirt und hat erst neuerdings in Berthold[2]) einen beredten Vertheidiger gefunden. Die Auffassung des Protoplasmas als ein Netzgerüst wurde dagegen von Frommann und Schmitz vertreten, denen sich auch Strasburger anschloss. Dieselben Differenzen, wie auf botanischem Gebiete, herrschen auch bei den Zoologen; da ich jedoch nur beabsichtige, die hierher gehörigen Fragen zu präcisiren, aber keine historische

1) E. Strasburger, Ueber den Theilungsvorgang der Zellkerne und das Verhältniss der Kerntheilung zur Zelltheilung 1882, p. 4.

2) G. Berthold, Studien über Protoplasmamechanik 1886.

Uebersicht zu geben, kann ich in dieser Beziehung einfach auf die Darstellung bei Flemming[1]) verweisen.

Da alle Autoren darin einig sind, dass das Protoplasma aus festen und flüssigen Theilen besteht, so haben wir uns in dem einen Falle die Grundmasse des Cytoplasmas als eine Mischung vorzustellen, welche dem äusseren Ansehen nach homogen ist, aber immerhin noch eine verschiedenartige Vertheilung der einzelnen Substanzen möglich erscheinen lässt, während in dem andern Falle die festen Theile das Gerüst bilden, die flüssigen Theile dagegen die Zwischenräume desselben ausfüllen.

Um hier eine Entscheidung zu treffen, ist es nothwendig, auf die Begründung dieser Ansichten näher einzugehen. Gehen wir aus von der unmittelbaren Beobachtung des lebenden, unveränderten Objectes, so wird man sich wohl niemals von der Gegenwart eines Gerüstes im Cytoplasma überzeugen können. Dies ist jedoch kein so schwerwiegender Beweis, als man glauben möchte, indem ja auch im ruhenden jugendlichen Kerne keinerlei Strukturen wahrzunehmen sind, ohne dass dieselben fehlen würden. Aber ich glaube, dass Manche umgekehrt von der Struktur des Kerns auf einen gerüstartigen Bau des Cytoplasmas geschlossen haben und hierdurch schliesslich zu unbewiesenen Analogien gelangt sind. Die Mittel, im Kern eine derartige Struktur sichtbar zu machen, bestehen in einer Fällung d. h. Fixirung und Färbung der protoplastischen Substanz, wodurch, sobald Strukturen bestehen, natürlich dieselben deutlicher hervortreten, da sich die einzelnen Strukturelemente voraussichtlich nicht alle gleich verhalten können. Dagegen ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass durch die Fällung wirklich homogener Substanzen ähnliche Strukturen entstehen.

Schon Flemming[2]) hat darauf hingewiesen, dass aus dem Zellsaft von *Spirogyra* netzförmige Niederschläge entstehen können. Dieselben haben jedoch, wie sie Flemming abbildet, eine geringe Aehnlichkeit mit den Gerüststrukturen und überdies handelt es sich ja nicht um die Ausfällungen aus dem Zellsaft, sondern um die Ausfällungen im Cytoplasma. Nichtsdestoweniger war der Gedanke weiter zu verfolgen und eine Untersuchung jener Niederschläge angezeigt, die man aus homogenen Substanzen ähnlicher Consistenz wie das Protoplasma erhielt. Namentlich musste gezeigt werden, dass man unter verschiedenen Bedingungen auch dieselben mannigfaltig verschiedenen Strukturen erhalten konnte, wie sie von Schmitz angegeben werden. Dies ist mir gelungen, indem ich eingedickte Pepton und Eiweisslösungen, sowie Leimgallerten und andere Substanzen in entsprechender Weise fällte, wodurch alle jene Cytoplasmastrukturen zum Verwechseln ähnlich nachgebildet wurden. Maassgebend für die Gestalt des Niederschlags ist die Consistenz resp. die Verdünnung der betreffenden Sub-

[1]) W. Flemming, Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung 1882, erster Abschnitt, Zellsubstanz. p. 10—85.

[2]) Zellsubstanz, Kern etc. p. 51.

stanz und nur derartig halbflüssige, schleimige bis zähe Stoffe sind zur Erzeugung von künstlichen Strukturen geeignet. Das Nähere hierüber ist im § 28 beschrieben.

Durch die Erzeugung dieser künstlichen Strukturen ist es sehr wahrscheinlich gemacht worden, dass die bei dem gleichen halbflüssigen Aggregatzustande des Cytoplasmas durch Fällung entstandenen Strukturen ebenfalls Kunstproducte sind. Es war jedoch die Möglichkeit nicht vollständig ausgeschlossen, dass sie vorher schon existirten, denn auch in diesem Falle mussten sie im Cytoplasma durch die Einwirkung der fixirenden Substanzen hervortreten. Um eine derartige Möglichkeit auszuschliessen, wendete ich meine bei den Chlorophyllkörpern und Kernen von Erfolg begleitete Methode der partiellen Lösung an. Bei dem Cytoplasma sind an Fällungspräparaten die Maschen des Netzes resp. des Gerüstes keineswegs blos mit Flüssigkeit erfüllt, die Füllmasse ist vielmehr tingirbar (bei stärkerer Färbung), sie enthält demnach ebenfalls coagulirbare Substanz. Existirte ursprünglich im Cytoplasma ein Gerüst, so musste man, nach Kernen und Chlorophyllkörpern zu urtheilen, hier ebenfalls eine Differenz in der chemischen Beschaffenheit nachweisen können. Dies gelang jedoch durch kein Reagenz. Die durch die gewöhnlichen Fixirungsflüssigkeiten fällbare Substanz war nur ein Stoff, u. z. um dies im Voraus zu bemerken, ein „Plastin“. Die geringen Differenzen in der Tinctionsfähigkeit von Gerüst und Zwischensubstanz rühren davon her, dass ersteres etwas dichter ist; ganz dieselben Differenzen des Tinctionsvermögens finden wir auch bei den nicht organisirten Niederschlagsbildungen.

Die Bilder, wie sie uns Schmitz[1]) beschreibt, sind fast ausschliesslich Fällungsproducte an unverletzten Zellen, die durchaus nicht immer identisch sind mit den von Frommann beschriebenen Strukturen. Frommann hat, was das Cytoplasma anbelangt, hauptsächlich pathologisch verändertes, etwas gequollenes Protoplasma gesehen und beschrieben, das von mehr oder weniger verletzten Zellen herrührte.

Frommann[2]) sagt: „Die mitgetheilten Befunde ergeben in Betreff der Strukturverhältnisse des Körnerplasmas der Kerne und der Chlorophyllkörper insoweit ein übereinstimmendes Resultat, als die einfachste Form, unter welcher die Differenzirung dieser Zellbestandtheile auftritt, die von Netzen ist, deren Maschen bei gleichmässiger Vertheilung der Knotenpunkte (Körnchen) eine annähernd gleiche Weite und deren Fäden eine ziemlich gleiche Stärke besitzen. Die Maschen sind dann entweder rund und die Netze bekommen ein siebartiges Aussehen oder sie sind quadratisch und es entsteht ein zierliches Maschengitter.“ Etwas weiter unten führt er an, dass die sieb- und

---

[1]) Schmitz, Sitzungsbericht der niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde in Bonn 13. Juli 1880.

[2]) C. Frommann, Beobachtungen über Struktur und Bewegungserscheinungen der Pflanzenzellen 1880. p. 33.

gitterförmigen Netze im Protoplasma (unserem Cytoplasma) häufig in beschränkter Ausdehnung, mitunter aber auch über Flächen vom doppelten und 3fachen Durchmesser eines Kernes ausgebreitet zu sehen sind.

Die hier beschriebenen Bilder sind durch eine Art Vacuolenbildung im Protoplasma entstanden. Beim Verletzen der Zellen, auch schon bei stärkerem Druck oder anderen schädlichen Einflüssen, wie z. B. durch die Einwirkung sehr verdünnter Anilinfarbstoffe kann im Cytoplasma eine Ausscheidung von Flüssigkeit stattfinden oder richtiger gesagt, eine Sonderung von festerer, zäherer Substanz und von Flüssigkeit. Es bilden sich im Protoplasma richtige Tropfen, die Kugelform annehmen, sobald sie nicht in zu grosser Anzahl ausgeschieden werden. Zwischen den einzelnen Tropfen befindet sich eine mehr zähe homogen aussehende Masse, so dass der Cytoplasmakörper das Aussehen eines Siebes erhält. Ist die Zahl der abgeschiedenen Tropfen eine sehr grosse, so platten sie sich gegenseitig ab, die dazwischen befindliche Plasmamasse nimmt die Form von geradlinigen Lamellen an; analog den Celluloselamellen der Zellen. Die Abbildungen bei Frommann sind ungenau und übermässig schematisirt, so dass man an ihnen den richtigen Sachverhalt nicht gut erkennen kann. Etwas besser sind (l. c.) noch Figur 12, Taf. I und die Figuren 8 und 13, Taf. II.

Eine Vacuolenbildung tritt in der Regel nur dort ein, wo das Cytoplasma in dichteren Schichten vorkommt, daher die Angabe von Frommann, dass sich die Netze besonders an den Enden der Zellen und um den Kern herum vorfinden, aber nicht überall gleichmässig im ganzen Cytoplasma.

Auf die nähere Beschreibung dieser Verhältnisse werde ich im § 30 bei der Besprechung der Wasserwirkung auf das Cytoplasma eingehen, hier sei nur noch bemerkt, dass auch derartige Bildungen nicht die Praeexistenz eines Netz-Gerüstes erweisen, indem man aus einer homogenen Mischung nicht organisirter Körper dieselben Bilder erhalten kann (vgl. hierzu § 29).

Die hier kurz angedeuteten Gesichtspunkte sind in den folgenden Paragraphen näher ausgeführt, sowie mit dem nöthigen Beweismaterial belegt.

Wenn ich nun auch die Ansichten von Frommann und Schmitz über allgemein vorkommende Cytoplasmagerüste und Netze verwerfe, so läugne ich doch nicht, dass auch in den Pflanzenzellen fädige Bildungen des Cytoplasmas vorkommen, die jedoch für die Funktionen der Zelle nicht von wesentlicher Bedeutung sein können. Wir wissen, dass in jugendlichen Zellen das Cytoplasma den ganzen von Zellkern und den jungen Chlorophyllkörpern freien Raum einnimmt, in alten Zellen dagegen bildet das Cytoplasma nur einen dünnen Wandbelag. In nicht zu inhaltsarmen Zellen, wo sich jedoch schon der Zellsaft abgeschieden hat, finden wir ausser dem Wandbelag der Zelle häufig das Cytoplasma zu feinen Strängen ausgezogen, die entweder durch das Zelllumen gespannt sind oder der Innenseite des Wandbelages anliegen. In einzelnen Fällen ist es wohl schwer zu entscheiden, ob diese Fäden nicht etwa in dem Cytoplasma selbst liegen, mit Sicherheit konnte ich mich davon jedoch nicht überzeugen. Die hier in Frage stehenden

Protoplasmafäden sind keine Kunstprodukte, man beobachtet sie mit Leichtigkeit an dem lebenden Object, das jedoch in ganz frischem Zustande sich befinden muss, da diese Fäden häufig schon gegen wenig schädliche Einflüsse sehr empfindlich sind. Da ich sonst nicht Gelegenheit habe auf diese Fadenwerke einzugehen, mögen hier einige diesbezügliche Beobachtungen eingeschaltet werden.

Wir haben zu unterscheiden zwischen den mehr unregelmässig geformten Cytoplasmasträngen, wie sie Jedem durch das bekannte Bild der Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica* geläufig sind, und Cytoplasmafäden, die ebenso wie die ersteren entweder den Zellsaft durchsetzen oder nur an dem plasmatischen Wandbelag der Zelle vorkommen. Die letzteren sind gleichmässig dicke Stränge, die nur durch Vereinigung mit anderen Strängen, durch Anastomosenbildung und Verschmelzung ein unregelmässigeres Ansehen erhalten. Ein principieller Unterschied besteht nach meiner Ansicht nicht, oder ist wenigstens bisher durch nichts bewiesen. Für meine Ansicht spricht, dass es bei verschiedenen Pflanzen Uebergänge gibt, welche diese Strang- und Fadenbildungen mit einander verbinden.

Bei einer sehr grosszelligen *Spirogyra* (Taf. V, Fig. 152) waren die inneren Schichten des Cytoplasmas ausgekleidet mit sehr zahlreichen feinen Fäden, die man erst bei Anwendung guter, starker Objective deutlich sehen konnte. Die Contouren sind keineswegs sehr scharf, das Lichtbrechungsvermögen der Fäden nicht wesentlich von dem des übrigen Cytoplasmas verschieden. Man erkennt diese Fäden dadurch leichter, dass die zahlreichen Mikrosomen sich in ihnen fortbewegen und die Fäden selbst häufig eine hin- und herschwingende oder schlängelnde Bewegung zeigen. Die Fäden gehen über die Aussenseite der Chlorophyllkörper hinweg, wie man aber an den chlorophyllfreien Stellen beobachten kann, ragen sie vielfach in den Zellsaft hinein, bilden Schlingen und Fadenwerke, welche direkt vom Zellsaft umspült werden, ohne dass sie denselben durchsetzen. Gerade ihre schwingende Bewegung spricht dafür, dass sie nicht direkt im Cytoplasma eingebettet liegen, da dieses einer derartigen Bewegung grösseren Widerstand entgegensetzen würde. Diese Cytoplasmafäden sind ausserordentlich empfindlich, sie ballen sich schon bei längerem Liegen in destillirtem Wasser zusammen, desgleichen wenn man 10 procentige Kochsalzlösung durchzieht und ebenso bei allen langsamer tödtenden Substanzen. Sie bilden dann kleine körnige Klümpchen, die sich besonders an den Chlorophyllbändern anhäufen (Taf. V, Fig. 154).

Analoge Fadenwerke hat auch Berthold in der farblosen Grundmasse von *Bryopsis* beobachtet, er beschreibt dieselben in seinen Studien zur Protoplasmamechanik (p. 60) folgendermaassen: „Im plasmatischen Wandbelag ausserhalb der von den Chlorophyllkörpern eingenommenen Schicht liegen massenhaft glänzende, homogene Fädchen von verschiedener Länge mit torulösen Auftreibungen versehen. Zuweilen erscheinen sie in der Flächenansicht auch als runde Tröpfchen. In radialer Richtung sind sie stark abge-

plattet, sie wechseln langsam ihre Lage, zerfallen gelegentlich und verschmelzen auch wohl miteinander. Bei Eingriffen erweisen sie sich als sehr unbeständig, sie verquellen sofort, es treten Vacuolen in ihnen auf, die sich vergrössernd der gesammten Grundmasse des Plasma eine anscheinend netzförmige Struktur verleihen. Ziemlich gut kann man sie aber mit Osmiumsäure, Jod in Meerwasser, Sublimat conserviren".

Bei dieser weitgehenden Gleichheit der Eigenschaften können wir wohl annehmen, dass diese Fadenwerke bei *Bryopsis* und *Spirogyra* analoge Gebilde sind.

Etwas Aehnliches konnte ich an den Blättern von *Mnium undulatum* (Taf. V, Fig. 153) beobachten, welche ich im September untersuchte. Zahlreiche, feine, perlschnurartige Stränge erfüllen die ganze Zelle. Obwohl sie hier und da miteinander zusammenhängen, so verlaufen sie doch im Wesentlichen parallel u. z. zumeist in der Richtung der Zellen, welche auf dem Mittelnerv ungefähr senkrecht steht. In der Regel trifft dies zusammen mit der Längsachse der Zellen. Die Stränge verlaufen innerhalb der Chlorophyllkörper und bedecken dieselben nur an ihrer centralen Seite, man sieht sie daher auch am besten bei Wandstellung der Chlorophyllkörper. Diese Cytoplasmafäden sind hier feine Stränge, welche durch den Zellsaft, aber dem Wandbelag anliegend, verlaufen. Ihr charakteristisches Aussehen erhalten sie durch die mit grosser Regelmässigkeit vertheilten Microsomen, welche in diesem Falle nur kleine Fetttröpfchen sind. Die Stränge sind überall gleich breit und ebenso die Körnchen gleich gross. Je nach der Einstellung des Mikroskops resp. der Beleuchtung der einzelnen Schnüre zeigen dieselben entweder dunklere Körnchen auf hellerem Bande oder hellere Körnchen auf dunklerem Bande.

Die kleinen Tröpfchen zeigen bei den im Wasser liegenden Blättern eine schwingende, hin- und hergleitende Bewegung innerhalb der Fäden, welche einigermaassen mit der Brown'schen Körnchenbewegung Aehnlichkeit hat, sich von derselben jedoch insofern unterscheidet, als die Körnchen nur in der Längsrichtung der Fäden hin- und herschwingen. Diese Bewegung ist eine Lebenserscheinung, denn sie ist an die Gegenwart von Sauerstoff gebunden, sie fehlt z. B. an Blättern, die in Olivenöl lagen, fast vollständig und nur eine minimale Bewegung bleibt übrig, die auch ganz fehlen kann und wahrscheinlich nur durch den bei der Assimilation der Chlorophyllkörper frei werdenden Sauerstoff unterhalten wird.

Die hier besprochenen Cytoplasmafäden sind ebenfalls sehr empfindlich gegen nachtheilige Einflüsse. Schon bei längerem Verweilen in Wasser gerathen sie in Unordnung, die einzelnen Fäden verwirren sich gewissermaassen. Lässt man sie unter Sauerstoffabschluss in Olivenöl liegen, so sind nach 22 Stunden schon die meisten Fäden zusammengeballt, es entstehen unregelmässige Körnchenhaufen, umgeben von den plasmatischen Resten der Fäden. Nach 3tägigem Liegen in Oel war von dem ursprünglichen Fadenwerke nichts mehr zu sehen, obwohl die Zelle in Kochsalzlösung noch

vollständig contrahirbar war, auch sonst keine Zeichen des Absterbens aufwies.

Beim Fixiren der Zellen stossen wir in der Regel auf ähnliche, zum Theil tiefgreifende Veränderungen. Am besten fixirten die Flemming'sche Mischung aus Chromsäure, Osmiumsäure und Essigsäure, sowie wässerige Sublimatlösungen, während durch verdünnte Osmiumsäure ($^1/_{10}$%) oder Essigsäure (1 %) allein, sowie durch Jod, Picrinsäure oder Alkohol die ursprüngliche Struktur vollständig verwischt wurde.

Bei Zusatz von Alkohol absolutus zu einem in wenig Wasser liegenden Moosblatt gerathen die Fäden zuerst in eine unruhige Bewegung, sie biegen seitwärts aus, zerreissen oder vereinigen sich zu einem weitmaschigen Netz. Dies Bild erhält sich jedoch nicht lange, die Fäden schrumpfen noch mehr, ballen sich zusammen, während die ursprünglich vorhandenen Tröpfchen (Microsomen) gelöst werden. Auch beim direkten Einlegen der Blätter in Alkohol abs. bleiben schliesslich nur einzelne Fäden zwischen den Chlorophyllkörpern übrig, die nicht mehr entfernt an das ursprüngliche Aussehen erinnern.

Bei 1 % Essigsäure bleiben die Fäden und Tröpfchen anfangs erhalten, sie verlieren jedoch bald ihre scharfe Begrenzung und ballen sich nach längerer Wirkung zu kleinen Klümpchen zusammen, die allmählig erstarren.

Concentrirte Picrinsäure zerstört in kurzer Zeit die Fäden, die Körnchen werden gelöst, wendet man dagegen eine circa 3—4 procentige Säure an, so bleiben die Fibrillen zum Theil erhalten, nur ihre Lage ist ganz verschoben, sie bilden ein weitmaschiges Netz, das zumeist im Innern der Zellen dichter ist.

Ich habe noch eine ganze Reihe von Fixirungsflüssigkeiten angewendet, im Grunde genommen jedoch keine wesentlich anderen Bilder erhalten wie bei den eben genannten Reagentien. Ich habe die letzteren nur angeführt, um zu zeigen, wie empfindlich derartige Fadenwerke sind und speciell wie vorsichtig man bei der Verwendung fixirter Präparate sein muss. Das Verhalten gegen verdünnte Picrinsäure, dem sich auch die Einwirkung von 0,1 % Osmiumsäure anschliesst, hat uns gelehrt, dass Plasmanetze auch durch die Zerstörung von Fadenwerken gebildet werden können.

Den Fadenwerken von *Mnium* schliesst sich zunächst die Fadenbildung an, wie ich sie in den Zellen junger unreifer Cotyledonen von *Ricinus sanguineus* (Taf. V, Fig. 155 und 156) beobachten konnte. Hier haben wir es ebenfalls mit perlschnurförmigen Gebilden zu thun, die in regelmässiger Vertheilung kleine Oeltröpfchen enthalten, auch überall gleich dick sind. Die Fäden verlaufen hier jedoch unregelmässig durch das Innere des Zellsaftes, ohne dass eine bestimmte Richtung bevorzugt wäre. Man erhält ein derartiges Präparat, wenn man Schnitte in frisches Hühnereiweiss bringt, das den Zellinhalt in verletzten Zellen sehr schön erhält, natürlich nur auf beschränkte Zeit.

Diese Fadenwerke bilden schon den Uebergang zu den Cytoplasmasträn-

gen. Bei Zellen aus der Wurzelspitze von *Pisum sativum* (Taf. V, Fig. 157) kann man derartige dünne Stränge sehr häufig finden, sie sind zahlreich in der ganzen Zelle vertheilt, ihre Dicke ist nicht mehr so gleichmässig, sie bilden Anastomosen mit dickeren Knotenpunkten, vereinigen sich wohl auch hie und da zu dickeren Strängen. Körnige Bildungen fehlten in diesem Falle, kamen jedoch bei anderen Pflanzen vor.

Gehen wir noch einen Schritt weiter, so kommen wir zu den Cytoplasmasträngen von *Tradescantia*haaren, die wie bekannt eine sehr verschiedene Dicke zeigen können, in ihrer Form auch wesentlich different sind. Es sind dies nur mehr Ausbuchtungen des Cytoplasmas, die wohl auch sehr feine Fäden bilden können, in der Regel aber compakter sind.

Alle diese Fäden und Stränge können unter Umständen von dem plasmatischen Wandbelag aufgenommen werden, so bei *Spirogyra* schon bei ungünstiger Beleuchtung, bei *Mnium* nach längerer wochenlanger Verdunklung, bei *Pisum* und *Tradescantia* beim Aelterwerden der Zellen. Es stimmt dies mit meiner Ansicht überein, dass alle diese Fadenwerke und Stränge nur morphologisch differenzirte Gebilde sind, aber in ihrer Zusammensetzung und physiologischen Bedeutung nicht wesentlich vom übrigen Cytoplasma abweichen. Bei ihrer meist nur geringen Beständigkeit ist es schwer, die vollständige chemische Uebereinstimmung nachzuweisen; so weit dies möglich war, konnte ich mich jedoch davon überzeugen, dass keine wesentlichen Differenzen vorlagen. Geringere Unterschiede sind jedoch nicht ausgeschlossen. Was die Stränge von *Tradescantia* anbelangt, so wird wohl Jeder meine Annahme acceptiren; indem ich nun die Analogie zwischen diesen Strängen und den feinen Fadenwerken aufgedeckt, ist der Schluss nicht unberechtigt, dass auch diese Fadenwerke eine dem übrigen Cytoplasma sehr ähnliche chemische Beschaffenheit haben, besonders da keine Differenzen nachzuweisen sind.

Meine Ansicht geht nach dem Gesagten dahin, im Cytoplasma sind keine präformirten Netze und Gerüste vorhanden, ein Theil desselben kann sich jedoch zu Fäden und Strängen umbilden. In Consequenz dessen muss ich annehmen, dass das Cytoplasma eine Mischung ist, in welcher unter Umständen eine Trennung von festerer, zäher und flüssiger gelöster Substanz eintreten kann.

Die Vacuolenbildung im Cytoplasma ist demnach, wie dies schon von Berthold hervorgehoben wurde, ein Entmischungsvorgang, welche Anschauung wir auch bei der chemischen Untersuchung des Cytoplasmas festzuhalten haben. Das letztere ist aus dreierlei Substanzen resp. Substanzgruppen gemischt. Erstens die zähdehnbare Substanz, welche wir als Cytoplastin zu bezeichnen haben, zweitens die in den Vacuolen gelösten Stoffe, drittens die in Wasser sowie im Cytoplasma unlöslichen Microsomen. Die Letzteren können auch ganz fehlen, während die Zusammensetzung aus Plastin und löslichen Stoffen nur relative Veränderungen aufweist.

Der mikroskopischen Untersuchung sind vorläufig nur die Eigenschaften des Plastins und der Microsomen zugänglich, während wir bei den löslichen Substanzen nur nachweisen können, dass es keine Proteinstoffe sind. Wo Kohlenhydrate und stickstoffhaltige Substanzen von Zelle zu Zelle wandern, da müssen nothwendiger Weise diese Stoffe auch im Cytoplasma vorhanden sein, wenn sie auch dort nicht gespeichert werden. Ebenso müssen die löslichen Umwandlungsprodukte der in den Chlorophyllkörpern gebildeten Kohlenhydrate zeitweise das Cytoplasma durchtränken. Auf Grund ähnlicher Erwägungen liesse sich wohl die Anwesenheit noch mancher Stoffe wahrscheinlich machen, es ist jedoch sehr fraglich, ob das Vorkommen dieser Stoffe auf das Cytoplasma beschränkt ist und da uns zur Zeit die Methoden zum directen Nachweis fehlen, muss ich darauf verzichten, dieselben näher zu bestimmen.

Die Microsomen des Cytoplasmas sind sehr verschiedenartige Gebilde. Einerseits hat man es hier mit Körnchen zu thun, die erst durch die Einwirkung von fällenden Substanzen entstanden sind, die also ursprünglich noch nicht vorhanden waren, andererseits handelt es sich um Einlagerung unlöslicher körniger Substanzen in das Cytoplasma, die jedoch wiederum sehr weitgehende stoffliche Differenzen aufweisen.

Die durch Fällungen entstandenen Körnchen sind zumeist kleiner, wenn auch die Grössendifferenz allein nicht maassgebend ist, ihre Form ist oft unbestimmter, es ist jedoch an fixirtem Material zumeist nicht möglich, dieselben ohne nähere Untersuchung von den schon ursprünglich vorhandenen Gebilden zu unterscheiden.

Solche Fällungsprodukte kommen sehr häufig neben den eigentlichen Microsomen vor. So erwähnt z. B. Schmitz, dass ganz junge plasmareiche Zellen (junge Ascosporen von Pilzen, junge Sporenzellen von *Characeen*, junge Pollenmutterzellen und Pollenzellen von *Phanerogamen*) nach dem Erhärten gleichmässig punktirt erscheinen. In dieser feinpunktirten Protoplasmamasse aber treten einzelne kleine Körnchen in wechselnder Anzahl deutlich hervor durch ihre stärkere Lichtbrechung sowie durch ihre grössere Tinctionsfähigkeit. Ganz dieselbe Struktur zeigen auch solche Abschnitte älterer Zellen, die aus sog. körnchenfreiem Plasma, sog. Hautplasma, bestehen (wie z. B. der hyaline Empfängnissfleck an den unbefruchteten Sporen von *Characeen*, hyaline Ausstülpungen der Myxomyceten, Plasmodien u. a.), nur dass hier diese dunkleren Körnchen viel weniger zahlreich und viel kleiner sind.

Die grösseren Körnchen sind die ursprünglichen Microsomen, während die kleinen Körnchen, wodurch die Grundmasse das feinpunktirte Aussehen erhält, nach meiner Ansicht erst durch die Fällung entstanden sind. Dass einzelne Körnchen auch in dem hyalinen Protoplasma zu finden sind, kann durch geringe Verschiebungen der plasmatischen Substanz beim Tödten resp. Fixiren verursacht sein, oder auch direkt eine Fällungserscheinung sein. Im nächsten Paragraphen sind derartige Bilder ebenfalls durch Fällung homogener Substanzen erhalten worden.

Abgesehen von diesen körnigen Fällungsprodukten sind die schon ursprüng-

lich vorhandenen Körnchen von sehr verschiedener chemischer Beschaffenheit. Bei Zellen in der Nähe von Harzgängen sind es kleine Harztröpfchen, bei ölführenden Pflanzentheilen irgend welche Oele. Ferner glaube ich, haben häufig sehr kleine Stärkebildner, die im Cytoplasma vorkommen, zur Täuschung Anlass gegeben. Bei Pflanzentheilen, die anfangs grün sind, wo aber die Chlorophyllkörper im Laufe der Entwicklung verschwinden, z. B. bei Hyacinthenblüthen, findet man als Degenerationsproducte derselben ebenfalls körnige Bildungen vor, die dann natürlich aus Proteinstoffen bestehen. Für die Bedeutung all dieser körnigen Bildungen ist es wesentlich, dass sie nur temporär auftreten, und da sich ausserdem in verschiedenen Fällen nachweisen liess, dass sie aus Oel oder Stärke bestehen, so ist der Schluss wohl berechtigt, dass sie nur metaplasmatischer Natur sind. Da ich nicht die Absicht hatte, mich mit diesen metaplasmatischen Stoffen zu befassen, so habe ich die Microsomen keiner näheren Untersuchung unterworfen.

Auch ohne näheres Eingehen auf die chemische Beschaffenheit der Microsomen des Cytoplasmas lässt sich jedoch mit Sicherheit sagen, dass die Microsomen des Cytoplasmas etwas wesentlich anders sind, eine total verschiedene Bedeutung haben als die Microsomen des Kerns, mit welchem Namen die Chromatinkörnchen bezeichnet wurden.

Es bleibt somit für unsere Untersuchung übrig, die Eigenschaften der im Cytoplasma vorkommenden Proteinstoffe zu bestimmen. Es stellte sich dabei heraus, dass wir es nur mit einer bestimmten Art von Stoffen zu thun haben, welche mit dem Plastin von Reinke und Zacharias, soweit sich dies constatiren liess, übereinstimmen. Dies Cytoplastin kommt in allen Theilen des Cytoplasmas vor, gemengt mit einer grösseren oder geringeren Quantität von Flüssigkeit und löslichen Stoffen.

Vor allen Dingen ist es wesentlich, dass auch die Grenzschichten des Cytoplasmas aus Plastin bestehen, dessen Eigenschaft bei längerer Berührung mit Wasser unlösliche Verbindungen zu geben, bisher übersehen wurde. Eine chemisch differente Vacuolenwendung wie sie De Vries annimmt, ist ursprünglich nicht vorhanden, es kann jedoch, wenn der Zellsaft gewisse Substanzen enthält und andere Vorbedingungen zutreffen, zur Bildung einer Niederschlagsmembran um den Zellsaft kommen.

Das Plastin des Cytoplasmas unterscheidet sich in chemischer Beziehung nur in einigen Reactionen von dem Chloroplastin der Chlorophyllkörper (vgl. § 36); zum Unterschied von dem letzteren habe ich es als Cytoplastin bezeichnet.

Ein Unterschied zwischen der Grundsubstanz des Körnerplasmas und dem Hyaloplasma war in Bezug auf den Plastingehalt nicht zu constatiren. Es muss mir sehr zweifelhaft erscheinen, ob überhaupt ein Unterschied besteht und ob mit Recht im Cytoplasma ein Körnerplasma und Hyaloplasma zu unterscheiden ist.

Nehmen wir eine Mischung eines halbflüssigen Körpers von ähnlicher Beschaffenheit wie das Protoplasma, also vielleicht eine eingedickte Peptonlösung oder eine ziemlich consistente Lösung von Traube'schem β-Leim

oder ein flüssiges Harz und vermengen diese Substanzen mit sehr feinen unlöslichen Körnchen, so lässt sich unter dem Mikroskop an der Peripherie eines Tropfens immer eine körnchenfreie Schicht wahrnehmen, d. h. die Körnchen liegen immer eingebettet in der betreffenden zähen Flüssigkeit, ohne dass sie die Oberfläche erreichen. Haben wir eine Mischung genommen, welche von Wasser nicht benetzt wird, so können wir die besprochene Erscheinung auch an jeder Grenze des Tropfens beobachten, welche mit Wasser in Berührung steht. Wir können auch eine Emulsion herstellen und immer werden wir beobachten, dass die Körnchen die Oberfläche nicht erreichen. Kann die Mischung, welche wir gewählt, in Fäden ausgezogen werden, zeigt sich dieselbe Erscheinung, und nur wenn die Dicke der Fäden sich der Grösse der Körnchen nähert, wird es schwer, mit Sicherheit eine Grenzlamelle nachzuweisen. Dasselbe finden wir aber auch bei dünnen Protoplasmasträngen, bei welchen die Körnchen auch nur von einer nicht mehr wahrnehmbaren Cytoplasmaschicht bedeckt sind. Immerhin muss in beiden Fällen wohl ein continuirlicher Zusammenhang der Grundsubstanz bestehen, sonst wäre das Ausziehen in Fäden sehr beschränkt, da die Cohäsion zwischen Körnchen und Grundsubstanz in den meisten Fällen geringer sein wird, was wir aus der leichten Verschiebbarkeit der Körnchen im Plasma schliessen können.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass in Mischungen in Folge von Oberflächenspannungen oder ähnlichen Kräften immer eine bestimmte Vertheilung kleiner ungelöster Körper angestrebt wird, welche sich darin kund gibt, dass die Oberflächen körnchenfrei bleiben. Wenn hiermit auch nicht gesagt ist, dass im lebenden Organismus noch besondere Combinationen von Kräften ausgeschlossen sind, welche diese Anordnung der Körnchen wesentlich modificiren, so gelangt man doch zu dem Schluss, dass eine derartige Unterscheidung des Cytoplasmas in körnchenfreie und körnchenhaltige Schichten nicht irgend welchen wesentlichen Organisationsverhältnissen des Cytoplasmas entspricht und somit für uns nur eine geringere Bedeutung hat.

Nach Abschluss meiner Arbeit erschienen die Studien über die Protoplasmamechanik von G. Berthold, welche ich noch speciell erwähnen möchte, wenn ich dieselben auch nicht wesentlich benutzen konnte. Berthold kommt in Bezug auf die Struktur des Cytoplasmas zu einem ähnlichen Resultate, nur dass Berthold, meiner Ansicht nach, ein zu grosses Gewicht auf die Schichtung des Cytoplasmas legt. Berthold begründet seine Anschauungen betreffs der Struktur hauptsächlich durch die Art und Weise der Bewegungsvorgänge am lebenden Protoplasma; da dieselben Erscheinungen jedoch auch auftreten können, wenn ein hinreichend verschiebbares Gerüst im Cytoplasma vorhanden ist, scheint es mir nicht überflüssig zu sein, die Angaben Berthold's noch durch andere Beobachtungen zu stützen. Im Uebrigen möchte ich jedoch dies geistreich geschriebene Buch Jedem, der sich für diesen Gegenstand interessirt, auf das wärmste empfehlen.

§ 28. Fällungserscheinungen und künstliche Strukturen.

Ich habe in dem vorhergehenden Paragraphen darauf hingewiesen, dass die bisher als Strukturen des Cytoplasmas beschriebenen Bilder, abgesehen von den schon ursprünglich vorhandenen Plasmafäden, entweder Fällungsproducte sind oder durch die Fixirung von Protoplasma entstanden sind, welches theilweise in Vacuolenbildung übergegangen war. An dieser Stelle sollen nun zunächst jene Formen der Niederschlagsbildung besprochen werden, welche bei der Fällung mehr oder weniger flüssiger Körper entstehen, speciell von Substanzen ähnlicher Consistenz wie das Cytoplasma.

Die Strukturen, welche wir hier zu erklären haben, sind in ihrer Form sehr mannigfaltig, wovon wir uns leicht überzeugen können, wenn wir die Tafeln der Arbeiten von Flemming, Strasburger und Anderen durchsehen, doch lassen sich gewisse Typen festhalten.

Der einfachste Fall ist, dass das Cytoplasma in eine feinkörnige, punktirte Masse verwandelt wird. Die durch das Fixirungsmittel niedergeschlagenen Körnchen können sehr klein sein oder grösser, sich scharf abheben oder nur undeutliche Contouren besitzen, sie werden dabei immer eine zusammenhängende Masse bilden, welche bei stärkerer Vergrösserung häufig zwischen den einzelnen Niederschlagskörnchen eine homogene Zwischensubstanz erkennen lässt. Derartige feinkörnige Strukturen habe ich schon im Vorhergehenden (pag. 137) erwähnt.

Speciell wäre noch hervorzuheben, dass derartige feinkörnige Bildungen von einem homogenen Rand begrenzt sein können, ohne dass sich jedoch dieser homogene Saum immer scharf von der körnigen Masse abhebt.

Wir finden solche körnige Bildungen besonders häufig an jungen, plasmareichen Zellen, doch auch in älteren Zellen kommen sie vor, nur sind sie dort mehr grobkörnig.

Gleichartige Niederschläge entstehen besonders bei dünnflüssigeren Substanzen, oder bei unvollkommener Bildung einer Niederschlagsmembran.

Eine zweite Form der sogenannten Cytoplasmastrukturen ist die Ausbildung eines Gerüstes, welches aus unregelmässig gebogenen, zusammenhängenden, etwas compakteren Fadenstücken besteht. Es handelt sich hier nicht um einen lückenlosen Verband, das ganze Plasma gleicht vielmehr einem Schwamm mit unregelmässig gestalteten Hohlräumen. Diese Hohlräume sind zumeist von Flüssigkeit ausgefüllt, können jedoch unter Umständen auch von einer weniger dichten Substanz erfüllt sein.

Derartige Gerüste finden wir namentlich an Zellen mit compaktem Plasmakörper, in welchen der Zellsaft noch mehr zurücktritt. Wir erhalten sie andererseits durch Fällung dickflüssiger, zäher Substanzen.

An Zellen mit ausgebildetem Zellsaft, die jedoch noch einen dickeren protoplasmatischen Wandbelag besitzen, tritt fast immer nach der Fixirung ein dichteres Fibrillengerüst auf, bei welchem jedoch die einzelnen unregelmässig verbundenen kurzen Fadenstücke in einer homogen erscheinenden Grund-

masse liegen. Wir sehen einen derartig lückenlosen Verband auf Taf. V, Fig. 161 abgebildet. Das Protoplasma der Epidermiszellen eines Blumenblattes von *Hyacinthus orientalis* wurde durch angesäuerte Ferrocyankaliumlösung fixirt, wodurch aus dem ursprünglich homogen erscheinenden Cytoplasma ein kurz fibrilläres Gerüst entstand. Die einzelnen Fibrillenstücke erscheinen nicht körnig, sie sind dichter als die dazwischenliegende Masse und färben sich daher auch intensiver als diese.

Aehnlich sehen jene Strukturen aus, welche ich auf Taf. V, Fig. 160 abgebildet habe. Es sind Zellen aus einem nicht zu alten Internodium von *Pisum sativum* (Keimling) nach der Fixirung mit Chrom-Osmium-Essigsäuregemisch. Der Unterschied zwischen diesen Bildungen und dem Cytoplasma von *Hyacinthus* besteht darin, dass die einzelnen Fibrillen körnig sind und etwas weiter auseinander liegen.

Ferner sind hier jene Cytoplasmafällungen anzuschliessen, welche an einer gleichmässigen Grundmasse einzelne unregelmässig vertheilte Körnchen zeigen. Diese Körnchen können sich stellenweise zu fibrillenähnlichen Formen vereinigen und auf diese Weise Uebergänge zu den vorhergehenden Bildungen zeigen. Die Grundmasse kann entweder homogen erscheinen oder fein punktirt. Als Beispiel einer derartigen Struktur habe ich eine Zelle aus dem Parenchym eines ziemlich alten Internodiums von *Phaseolus multiflorus* abgebildet (Taf. V, Fig. 159). Die hier sichtbaren grösseren Körnchen sind kleine Stärkebildner, während die übrigen Körnchen durch Fällung entstanden sind.

Zwischen den einzelnen hier besprochenen Formen giebt es natürlich Uebergänge, wodurch die Mannigfaltigkeit der Formen wesentlich vermehrt wird.

Gleichartige Strukturen erhalten wir an dünnen Niederschlagshäuten, über deren Aussehen wir uns vorläufig orientiren können, wenn wir die Figuren 162—169 auf Taf. VI. in Betracht ziehen.

Ausserdem kann durch Fällungen noch ein grobmaschiges Netz entstehen, bei welchem jedoch die Stoffe aus dem Zellsaft betheiligt sind. Beobachtet man nur fixirte Objecte, so ist es nicht möglich, den Ursprung dieser mehr oder weniger weitmaschigen Netze zu erkennen, sie wurden daher auch vielfach als Strukturen des Cytoplasmas beschrieben.

Aehnliche weitmaschige Netze können aus dem Cytoplasma entstehen, wenn Cytoplasma, das in Folge langsameren Absterbens in Vacuolenbildung übergegangen ist, fixirt wird. Diese Formen werden jedoch erst im nächsten Paragraphen besprochen.

Wollen wir nachweisen, dass diese vermeintlichen Strukturen wirklich Fällungsproducte sind, so haben wir zunächst zu zeigen, wodurch das verschiedene Aussehen des Niederschlags bedingt ist, auf welche Weise solche künstliche Strukturen entstehen können.

Wir haben dreierlei Fällungserscheinungen zu berücksichtigen. Erstens eine Niederschlagsbildung aus homogener Substanz, wobei das Fällungs-

mittel den fällbaren Stoff vollständig durchdringt. Der Niederschlag entsteht bei der Pflanze aus dem Cytoplasma und der Fixirungsflüssigkeit.

Der zweite Fall ist, es wird an der Grenze zweier Stoffe eine Niederschlagsmembran gebildet, wie dies bei den sog. Traube'schen Zellen stattfindet. Die dazu nothwendigen Membranbildner sind wiederum die Proteinstoffe des Cytoplasmas und die Fixirungsflüssigkeiten.

Drittens haben wir es mit Ausfällungen aus dem Zellsaft zu thun, welche auf dem Cytoplasma niedergeschlagen werden.

Die allgemeinste Bedeutung hat die erste Form der Fällung, deshalb sei dieselbe auch zunächst behandelt. Gibt der in Lösung befindliche Körper bei seiner Ausfällung einen leicht krystallisirbaren Niederschlag, so werden die ausgefällten Theilchen kleine Kryställchen sein, sobald die Concentration der gelösten Substanz eine geringe war. Eine concentrirtere Lösung wird einen dichteren Niederschlag liefern, der unter Umständen auch grössere Krystalle aufweisen kann. War die Lösung mehr oder weniger vollständig gesättigt, so wird die ganze Masse meistens zu einem zusammenhängenden Körper erstarren, und nur seltener adhäriren die einzelnen Niederschlagstheilchen nicht aneinander. Bei nicht oder nur schlecht krystallisirbaren Körpern haben wir ähnliche Verhältnisse, nur dass die ausfallenden Theilchen nicht Krystalle, sondern kleine Körnchen oder Tröpfchen vorstellen.

Die Gestalt des Niederschlages hängt hier ebenfalls in erster Linie von der Concentration des Stoffes ab, ausserdem ist jedoch die Fähigkeit eine zusammenhängende Niederschlagshaut zu liefern, von der Beschaffenheit des niedergeschlagenen Körpers abhängig. Die grösste Cohäsion der Niederschlagstheilchen zeigen colloidale Körper, um solche handelt es sich aber bei der Fixirung des Cytoplasmas. Sehen wir ab von sehr verdünnten Lösungen, in welchen ein Niederschlag wegen der vorhandenen geringen Stoffmenge nur langsam entsteht, so würden diese Körper im leichtflüssigen Zustande einen feinkörnigen, jedoch zusammenhängenden Niederschlag geben. Der ganze Niederschlag bildet eine ziemlich durchsichtige, feinpunktirte Masse, die, besonders bei schwächerer Vergrösserung, ein durch und durch gleichartiges Aussehen hat. Bei sehr starker Vergrösserung sieht man jedoch, dass auch hier schon Differenzen in Bezug auf die Grösse der den Niederschlag bildenden Körnchen bestehen. Steigt nun die Concentration etwas, ohne dass jedoch der zu fällende Körper den Charakter einer Flüssigkeit verliert, so wird der Niederschlag etwas grobkörniger; es liegen etwas grössere Körnchen in einer mehr feinkörnigen Masse. Bei festerer Consistenz der den Niederschlag liefernden Substanzen treten die gröberen Körnchen in grösserer Menge auf, sie vereinigen sich zu kurzen Fibrillenstückchen; diese Fibrillen können sich dann besonders bei zähflüssigen Substanzen zu einem Netzwerk vereinigen, das entweder Flüssigkeitslücken zwischen sich lässt, oder dessen Zwischenräume von einer feinkörnigen Masse erfüllt sind. Die hier gegebenen Thatsachen sind so ziemlich allen Niederschlägen aus colloidalen Stoffen gemeinsam. Um die Differenzen, welche bei verschieden-

artigen Stoffen zu beobachten sind, kennen zu lernen, müssen wir auf diese selbst eingehen.

Getrocknetes Hühnereiweiss, von Schuchardt in Görlitz bezogen, wurde pulverisirt, in Wasser gelöst und durch Filtriren von den beigemengten körnigen Verunreinigungen befreit. Die verdünnte Lösung gibt bei Zusatz von Alkohol absolutus, oder 1 procentiger Picrinsäure oder mit Flemming'scher Mischung einen sehr feinkörnigen Niederschlag. Ist das Eiweiss dickflüssiger, so entstehen Körnchen, die in einer Grundmasse liegen und sich zu gebogenen, in einander geschlungenen Stäbchen vereinigen. Die Körnchennatur tritt hier besser hervor, als bei anderen Niederschlägen, sie erscheinen besonders in der Picrinsäure etwas dunkler als die Grundmasse. Wir erhalten dieselben Bilder, ob wir nun einen Eiweisstropfen auf dem Objectträger untersuchen, oder ob wir die einzelnen Flocken eines im Reagenzglase gebildeten Niederschlages untersuchen. Die Körnchen und die Grundsubstanz speichern Farbstoffe, die ersteren sind jedoch etwas dichter und so erscheinen sie intensiver gefärbt als die übrige Masse, ohne dass hier natürlich eine chemische Differenz vorhanden wäre. Wir sehen daraus, dass man aus der etwas stärkeren Färbung gerüstähnlicher Theile nicht auf chemische Differenzen schliessen darf.

Hervorzuheben ist dabei noch, dass die Beschaffenheit des Fällungsmittels auf die Natur des Niederschlages keinen Einfluss hat, die Niederschläge sehen gleich aus, ob Alkohol, Flemming'sche Mischung oder Picrinsäure angewendet wurde. Diese drei Substanzen durchdringen sogleich den ganzen Eiweisstropfen. Der Einwand also, dass dieselben Strukturen entstehen, gleichgültig welches Fixirungsmittel man angewendet hat und dass deshalb die zu Tage tretenden Strukturen schon ursprünglich vorhanden sein müssten, ist demnach hinfällig. Das Aussehen des Niederschlags richtet sich nach der Consistenz des colloidalen Körpers, hier also des Eiweisses, in der Zelle des Cytoplastins, während die Concentration des Fixirungsmittels nur insofern in Betracht kommt, als die zur schnellen Fällung nothwendige Menge vorhanden sein muss.

Anders verhält es sich, wenn wir zu dem Eiweisstropfen Eisenchlorid hinzufügen. Das Eiweiss wird nicht vollständig gefällt, es entstehen an der Oberfläche des Eiweisses Häute, die homogen sind oder nur schwach körnige Struktur aufweisen. Hier handelt es sich also mehr um die Bildung einer Niederschlagsmembran, die ich weiter unten näher besprechen werde. Aehnliche Erscheinungen finden wir auch bei dem Cytoplasma.

Mit Peptonlösung erhält man wesentlich dieselben Bilder wie mit Eiweisslösung. Zur Bildung eines zusammenhängenden Niederschlags ist es nothwendig, dass die Peptonlösung anfängt schwerflüssig bis zäh zu werden. Man kann verschiedene Stadien nebeneinander erhalten, wenn man nicht zu concentrirte Peptontropfen auf dem Objectträger eintrocknen lässt. Es wird der Rand zuerst zähflüssig, während die Mitte noch leichtflüssiger bleibt. Bei Zusatz von Alkohol entsteht im Innern ein körniger Niederschlag, an

der Peripherie ein eng und weitmaschiges Fibrillennetz. Die Beschaffenheit des Fällungsmittels war auch hier gleichgültig, ich wendete Alkohol, verdünnte Picrinsäure und Jodlösung an.

Gewöhnlicher Tischlerleim gibt in verdünnter Lösung bei der Fällung mit Alkohol keinen feinkörnigen Niederschlag wie Eiweiss und Pepton, es entstehen vielmehr einzelne runde Tröpfchen — also eine Emulsion. Der Grund hiervon ist die Beschaffenheit des Leimes. Dagegen entsteht ein schönes Gerüst, gleich dem an compakten Plasmakörpern, sobald die Leimlösung sehr concentrirt war. Sehr schön bildet sich diese Struktur, wenn man einen Tropfen von Leim, der in der Wärme zähflüssig ist und sogleich beim Erkalten fest wird, auf dem Objectträger mit Alkohol abs. oder noch besser mit wässerigem Alkohol benetzt.

Anders verhält sich der lösliche Leim (von Traube β-Leim genannt), der in Wasser sehr leicht aufquillt, bei der Fällung mit Gerbstoff. Kommt Gerbstoff und Leim in genügender Concentration mit einander in Berührung, so entsteht, wie bekannt, eine Niederschlagsmembran. Ist jedoch einer der Membranbildner nicht in genügender Concentration in der Lösung vorhanden, so entsteht nur ein Niederschlag.

Eine sehr verdünnte Lösung von β-Leim mit 0,5% Gerbstoff gefällt, ergibt ein weitmaschiges Fibrillennetz, wie es in Taf. VI, Fig. 163 abgebildet ist, wobei die Fibrillen meist deutlich körnig erscheinen, oder es entsteht ein feinkörniger mehr gleichmässig vertheilter Niederschlag. Auf die Bildung und Lagerung sind in diesem Falle Bewegungen in der Flüssigkeit, sowie die Art des Zutrittes der Gerbstofflösung nicht ganz ohne Einfluss. Es ist diese Niederschlagsbildung von besonderem Interesse, weil die hier entstehenden Netze jenen gleichen, welche man bei Ausfällungen aus dem Zellsaft erhält.

Wird die verdünnte Leimlösung durch eine 6procentige Gerbstofflösung gefällt, so entsteht ein dichter, zusammenhängender, fibrillärer Niederschlag, wie er auf Taf. VI, Fig. 162 abgebildet ist. Die Fibrillen liegen hier in einer Grundmasse ohne Struktur, sie sind wenig oder gar nicht körnig, die Maschen sind ausserordentlich eng, die Fibrillen unregelmässig gebogen und ineinander verschlungen. Die Bewegungen der Flüssigkeiten, sowie die Art des Zutrittes der Gerbstofflösung sind ohne Belang.

Fällt man eine concentrirtere Leimlösung durch eine ungenügende Menge von Gerbstoff (0,5% Gerbstoff), so entstehen Bilder wie Fig. 163, bei mehr Gerbstoff bilden sich feinkörnige Niederschlagshäute.

Gummi arabicum quillt beim Einlegen in Wasser, bevor er sich löst. In diesem gequollenen Zustand entstehen bei Zusatz von Alkohol Körnchen und Fibrillen, die in einer weniger dichten Grundmasse liegen. Ist Lösung eingetreten, so fällt ein feinpunktirter Niederschlag heraus, der um so feiner ist, je verdünnter die Lösung war, bei sehr verdünnten Gummilösungen ist der Niederschlag ganz durchsichtig.

Dieselben Differenzen beobachten wir an verdünnter und concentrirterer

Gelatinelösung bei Fällung mit Alkohol. Merkwürdig ist jedoch, dass Gelatinegallerte, d. h. die nach dem Erkalten gestandene Substanz mit Alkohol keine Netzstruktur gibt, sondern nur Häute an der Oberfläche der Gelatine. Etwas Alkohol, doch nur sehr wenig, kann auch durch diese Niederschlagsmembranen dringen, was man aus dem Undurchsichtigwerden der Gallerte schliessen kann. Erwärmt man die Gelatinegallerte in Alkohol, so entstehen ebenfalls Fibrillengerüste. Wir ersehen hieraus, dass eine Umlagerung der kleinsten Theilchen, wie man sie beim Gallertigwerden einer Gelatinelösung anzunehmen hat, die Niederschlagsform modificirt. Aehnliche Differenzen könnten möglicherweise in den verschiedenen Schichten des Cytoplasmas vorhanden sein, wodurch erklärt würde, dass die Grenzschichten bei der Fixirung ein anderes Bild geben können als die inneren Schichten, doch ist ein derartiger Einfluss schwer zu bestimmen.

Schliesslich sind hier noch jene Niederschläge zu erwähnen, welche wir aus alkoholischen Lösungen von Harzen bei Zusatz von Wasser erhalten. Verwendet wurden die alkoholischen Lösungen von Fichtenharz und Colophonium, von Sandarak (Harz von *Callitris quadrivalvis*), der lösliche Theil von Mastix (Harz von *Pistacia lentiscus*) und Gummi Kino (von *Pterocarpus marsupium*). Verdünnte Lösungen geben kleine Tröpfchen, die in der etwas concentrirteren Lösung grösser ausfallen. Ist die Lösung zähflüssig oder legt man ein Harzstückchen zuerst kurze Zeit in Alkohol und fügt dann Wasser hinzu, so bilden sich durch Zusammenballung der kleinen Tröpfchen zusammenhängende Fibrillennetze aus.

Ich glaube, diese Angaben genügen, um zu beweisen, dass bei zähflüssiger Consistenz des fällbaren Stoffes Fibrillen und Körnchen entstehen können, die entweder in einer strukturlosen bis feinpunktirten Grundsubstanz liegen (Eiweiss, Pepton, Gelatine) oder doch ein ähnliches Fibrillennetz geben mit weniger deutlich ausgeprägter Grundsubstanz (Harze).

Ist der zu fällende Stoff etwas flüssiger, so entstehen körnige Niederschläge mit ebenso verschieden ausgeprägten Niederschlagstheilchen, wie bei dem leichtflüssigeren Cytoplasma.

Die Form des Niederschlags gestattet demnach einen gewissen Rückschluss auf die Consistenz des Cytoplasma.

Eine Complication bei dieser künstlichen Strukturbildung entsteht, wenn wir ein Gemisch von Stoffen mit Fällungsmitteln behandeln, welche nur einen Theil der Stoffe fällen, andere jedoch lösen. Etwas derartiges beobachtet man beim Weihrauch (von *Boswellia papyrifera*). Derselbe besteht aus einem in Wasser quellbaren Gummi und aus einem ätherischen Oel. Bei Behandlung mit Alkohol lösen sich die Oeltröpfchen auf, der Gummi wird gefällt, es entsteht so ein Netz mit sehr verschieden grossen Löchern, die an Stelle des weggelösten Oeles auftreten. Auch im Cytoplasma finden sich Stoffe, welche in den angewendeten Fixirungsflüssigkeiten löslich sind, wodurch natürlich die Form des Niederschlages ebenfalls modificirt werden muss. Es gilt dies speciell von Pflanzenzellen, die Oel enthalten und mit

Alkohol fixirt werden. Wir erhalten in diesem Falle wesentlich von der ursprünglichen Anordnuug der Cytoplasmatheile abweichende Bilder.

Die zweite Art, wie künstliche Strukturen entstehen können, ist durch die Bildung von Niederschlagsmembranen gegeben, deren Entstehung und Wachsthum ich an den von Traube angegebenen Substanzen verfolgte. Ich untersuchte die Niederschläge von β-Leim und Gerbstoff, essigsaurem Blei und Gerbstoff, essigsaurem Kupfer und Ferrocyankalium, essigsaurem Kupfer und Gerbsäure, essigsaurem Kupfer und kieselsaurem Kali, und Ferrocyankalium und Eisenchlorid.

Diese Niederschlagsmembranbildung ist für unsere Zwecke besonders deshalb von Wichtigkeit, weil es uns auf diese Weise möglich ist, sehr dünne Niederschlagsschichten zu beobachten, denn auch bei Zellen mit dünnerem Wandbelag handelt es sich bei der Fixirung um die Fällung sehr dünner Cytoplasmaschichten.

Ausserdem werden auch an Pflanzenzellen ähnliche Niederschlagsmembranen gebildet, was wir daraus ersehen, dass z. B. bei der Fällung mit Flemming'scher Mischung der Farbstoff des Zellsaftes lange Zeit nicht in die Umgebung diffundirt, obwohl die Zelle getödtet ist. Bei Anwendung von verdünnter Osmiumsäure oder von Salzsäure bildeten sich Niederschlagsmembranen, welche Plasmolyse todter Zellen in 20proc. Zuckerlösung zuliessen, und auch beim Hinzufügen von Wasser konnten sich diese fixirten Gebilde wieder ausdehnen. Gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia fixirt das Protoplasma (oft ohne Plasmolyse), der Farbstoff des Zellsaftes diffundirt jedoch nicht heraus.

Es ist hier nicht meine Aufgabe die Bedingungen zu eruiren, unter welchen sich eine Niederschlagsmembran bildet, es kommt mir nur darauf an zu zeigen, welches Aussehen uns die verschiedenen Membranen unter dem Mikroskop bieten.

Sind die Lösungen beider Membranbildner oder auch nur von dem einen Membranbildner zu verdünnt, so entstehen körnige Niederschläge, die sich zu körnigen, lose zusammenhängenden Membranen vereinigen. Da solche Niederschläge für die Membranbildner leicht durchlässig sind, erstarrt ein Tropfen, den man in ein mit dem anderen Stoffe gefülltes Schälchen fallen lässt, binnen kurzer Zeit, indem sich an der Innenseite des gebildeten Niederschlags solange neue Niederschlagskörnchen abscheiden, bis der eine Stoff verbraucht ist.

Erst bei höherer Concentration beider Membranbildner entstehen Häute, welche die beiden Flüssigkeiten vollkommener von einander trennen und so das Wachsthum sogenannter künstlicher Zellen ermöglichen. Diese Niederschlagsmembranen sind bei ihrer Bildung immer homogen durchsichtig, sie zeigen grössere Cohäsion, sind auch elastisch dehnbar, was bei den vorigen Gebilden nicht zutrifft. Zwischen beiden Membranformen giebt es natürlich Uebergänge, die entstehen, wenn der eine Membranbildner die genügende Concentration nur annähernd erreicht.

Das Dickenwachsthum der Membranen geht nun in verschiedener Weise vor sich. Es bilden sich Strukturen aus, welche ganz ähnlich dem Cytoplasma aus Körnchen und Fibrillen bestehen, die in einer Grundmasse liegen (z. B. 8% essigsaures Kupfer in 10% Ferrocyankalium), oder die Membran verdickt sich homogen (20% Gerbstoff in 15% essigsaurem Blei) oder nur die zuerst gebildete äusserste Membranschicht ist homogen, während die inneren Schichten körniges Gefüge aufweisen (2% Gerbstoff in 8% essigsaurem Kupfer). Das Dickenwachsthum der Membran unterbleibt nur dann, wenn der Niederschlag in höherem Grade von dem äusseren Membranbildner gelöst wird (15% essigsaures Blei in 20% Gerbstoff).

Es ist überflüssig, alle die zahlreichen Versuche hier anzuführen, welche ich, die verschiedensten Concentrationen der Lösungen combinirend, angestellt habe, es seien hier nur einige Beispiele angeführt. Bei meinen Versuchen liess ich die Blasen, d. h. die künstlichen Zellen entstehen, indem ich den äusseren Membranbildner auf den Objectträger auftrug, von dem inneren Membranbildner einen kleineren Tropfen vor dem Auflegen auf das Deckglas setzte. Damit die Blase ungestört wachsen konnte, ruhte das Deckglas auf 2 Korklamellen. Zur Controlle wurden, wenn es nothwendig war, auch die Versuche in der Weise angestellt, dass ich die eine Flüssigkeit durch ein sehr enges Glasrohr in die andere sich in einem Schälchen befindliche Flüssigkeit laufen liess. Bei allen Versuchen wurden beide Lösungen als Innen- resp. als Aussenflüssigkeit verwendet. Zur Beobachtung sind wegen der Feinheit der Strukturen sehr starke Objective zu verwenden.

Betrachten wir zunächst die Niederschlagsmembranen zwischen essigsaurem Kupfer (0,5, 1,6, 8%) und Ferrocyankalium (0,4, 2, 10, 20%).

Combinationen, die 0,5 essigsaures Kupfer oder 0,4% Ferrocyankalium enthalten, geben keine vollständigen Blasen. Die entstehenden Häute sind von Anfang an feinkörnig, nur stellenweise homogen oder sehr fein punktirt. Die letzteren werden jedoch auch bald körnig. 1,6% essigsaures Kupfer gibt mit 2% und 10% Ferrocyankalium anfangs homogene Membranen, die jedoch bald körnig werden, besonders wenn die Menge und Concentration des Ferrocyankaliums überwiegt. Bei 20% Ferrocyankali wird, da dasselbe den Niederschlag zugleich löst, überhaupt keine homogene, cohärente Membran gebildet.

Eine Lösung von 8% essigsaurem Kupfer liefert, mit allen Concentrationen des anderen Membranbildners (0,4% und weniger ausgenommen) homogene Membranen, die starkes Dickenwachsthum zeigen.

Als Beispiel für die Ausbildung einer Niederschlagsmembran, welche eine dem Cytoplasma ähnliche Struktur erst allmählig erhält, will ich die Bildung sog. künstlicher Zellen näher besprechen, die beim Einbringen einer 8procentigen Lösung von essigsaurem Kupfer in 10procentige Ferrocyankaliumlösung zu beobachten ist.

Es wird hier zunächst eine gut haltbare, vollständig homogene durchsichtige Membran gebildet, deren rothe Farbe jedoch erst nach der Verdickung

deutlich hervortritt. An der Aussenseite der Blase werden Körnchen ausgeschieden, welche entweder der Membran anhaften (vgl. Taf. VI, Fig 164) oder sich von der Membran loslösend in die umgebende Flüssigkeit (Ferrocyankalium) hineinragen (Taf. VI, Fig. 166). Diese zuerst ausgeschiedenen Körnchen, die auch Krystallform annehmen können, bilden in den späteren Stadien die etwas dunkler gefärbten, rundlichen Körper, wie wir sie in den Figuren 167 und 168 wahrnehmen. Unabhängig von diesen Ausscheidungen wird nun die Membran selbst verändert. Zuerst treten nur ganz kleine, undeutlich contourirte Körnchen in derselben auf, die gleichmässig über die ganze Membran vertheilt sind. Diese Körnchen nehmen nach und nach an Deutlichkeit zu, wachsen etwas und durch Zwischenschiebung neuer Körnchen werden sie zu kleinen Stäbchen oder Fibrillenähnlichen Gebilden vereinigt. Bald sehen wir nur gewundene und gebogene Körnchenreihen ausgeschieden (Fig. 166), bald sehen wir keine Körnchen, sondern nur Stäbchen (Fig. 165). Diese Stäbchen und Körnchenfibrillen verleihen der Membran ganz das Aussehen einer fixirten Cytoplasmaschicht. Speciell gleicht Fig. 166, welche die Ansicht des Randes einer Blase wiedergiebt, dem auf Taf. V, Fig. 160 wiedergegebenen Bilde von *Pisum sativum* und ebenso ist Fig. 165 dem gefällten Cytoplasma der Hyacinthenblüthenzelle Taf. V, Fig. 161 ähnlich. Ein geringer Unterschied besteht vielleicht nur darin, dass bei dem fixirten Cytoplasma die Fibrillen und Körnchen etwas unregelmässiger sind und die Stäbchen (Fig. 165) mehr zur Krystallform hinneigen. In der That werden im weiteren Verlaufe des Dickenwachsthums der Membran diese Stäbchen vergrössert und man erkennt deutlich ihre krystallinische Natur. Es wachsen diese Krystalle aber nicht für sich allein, sondern die ganze Membran wächst in die Dicke. Die Kryställchen ragen also gar nicht oder nur ganz wenig über die Grundsubstanz hervor, beide wachsen gleichmässig. In der Fig. 167, Taf. VI, sehen wir die Kryställchen ziemlich scharf von der übrigen Membran abgehoben. Wenn sie sich nun noch weiter vergrössern, so stossen sie theilweise mit ihren Kanten aneinander, die übrige Membran ist auch dicker geworden, es scheint weniger Licht hindurch und die Folge davon ist, dass wir ihre Contouren in den letzten Stadien nicht mehr oder nur sehr undeutlich sehen (Fig. 168). Am besten kann man das Dickenwachsthum der Membran beurtheilen an den Falten der Niederschlagsmembran (Fig. 168), wie sich solche immer an den, auf dem Objectträger entstehenden Blasen bilden. Die Membran wächst an ihrer Aussenseite in die Dicke, daher werden wir den bedeutenden Dickenzuwachs zu beiden Seiten der Falte gut wahrnehmen können. Allerdings ist es nothwendig, die Membran 12 bis 16 Stunden wachsen zu lassen, bis wir zu einem Endstadium wie Fig. 168 gelangen.

Wir sehen demnach, dass dünnere Niederschlagsschichten ein anderes Aussehen darbieten, als dickere Schichten. Im einen Falle sind dieselben homogen mit einzelnen eingelagerten Körnchen (wie Fig. 159, Taf. V)

im anderen Falle, d. h. bei dickeren Niederschlagsschichten erhalten dieselben ein fibrilläres, gerüstförmiges Aussehen (wie Fig. 160 und 161, Taf. V).

Ist der eine Membranbildner ein Colloid, so werden selbstverständlich schliesslich keine Krystalle entstehen. Der Niederschlag bleibt körnig fibrillär.

Bei Anwendung weniger concentrirter Lösungen entsteht unter dem Mikroskop keine so dicke Membran, da die Membranbildner vorher aufgebraucht werden. Es kommt wohl zum Körnigwerden, auch Stäbchen werden ausgeschieden, doch die eigentliche Krystallbildung unterbleibt. Die Membran bleibt auch bei längerem Liegen durchsichtiger und dünner.

Die hier beschriebenen Membranstrukturen verdanken selbstverständlich ihre Entstehung nicht Auflösungsprocessen, obgleich 10% Ferrocyankalium das ausgeschiedene Ferrocyankupfer etwas löst, wir ersehen dies schon aus dem Umstande, dass unsere Membran viel dicker wird. Ebenso haben wir diese Strukturen von jenen bei unvollkommener Blasenbildung zu unterscheiden. Im letzteren Falle haben wir es mit einem dichten Niederschlag zu thun, der gleich von Anfang an körnig punktirt ist, während die Membran bei der Bildung einer sog. künstlichen Zelle zuerst homogen ist und erst nach einiger Zeit eine bestimmte Struktur erhält. Diese Strukturbildung in der Niederschlagsmembran ist als ein specifischer Wachsthumsprocess aufzufassen.

Die homogene Verdickung der Niederschlagsmembran tritt bei vollständiger Blasenbildung relativ am häufigsten ein u. z. besonders dann, wenn der innere Membranbildner den entstandenen Niederschlag ziemlich stark auflöst. Sind z. B. essigsaures Blei und Gerbstoff die Membranogene, so löst der Gerbstoff in höherer Concentration das entstandene gerbsaure Blei auf. Bringen wir daher einen Tropfen Gerbsäure von 20% in eine Lösung, welche 15 oder $7^1/_2$% essigsaures Blei enthält, so bildet sich sofort eine klare homogene Membran. Da die Lösung von essigs. Blei osmotisch stärker wirksam ist, dehnt sich die Blase nicht aus, die Membran ist nicht prall gespannt, sondern faltig. Bei längerem Verweilen der Zelle in der Bleilösung entsteht kein Niederschlag weder im Innern der Blase noch ausserhalb derselben, aber die Membran verdickt sich ganz bedeutend. Sie wird allmählich fest, spröde, steif und starr. Nach 16 Stunden kann man die am Glasrohr entstandene Zelle aus der Flüssigkeit herausnehmen, das Glasrohr horizontal stellen, ohne dass die Zelle sich nach abwärts neigt. Zerbricht man die Blase in essigsaurem Blei, so bildet sich aus deren Inhalt kein Niederschlag oder nur ein ganz unbedeutender. Es beweist dies, dass die ganze Gerbsäuremenge zur Membranbildung verbraucht wurde.

Bringen wir umgekehrt einen Tropfen essigsaures Blei von 15% in eine Gerbsäurelösung von 20%, so bildet sich eine vollkommene Blase mit homogener, dehnbarer Membran. Nach längerem Verweilen wird diese Membran jedoch körnig. Zu gleicher Zeit sah man in der Gerbsäurelösung eine dichtere Flüssigkeit (die Lösung des gerbsauren Bleis) von der Blase nach

abwärts fliessen. Diese Art von Körnigwerden der Membran beruht auf einem Lösungsprocess, indem schliesslich durch wiederholte Membranbildung und Lösung die Menge des Bleis derartig abnimmt, dass keine homogene Membran mehr entstehen kann. Schon bei 3 % essigsaurem Blei entsteht in 20 % Gerbsäure nur mehr eine leicht zerreissliche und punktirte Membran, bei 1 % unterbleibt die eigentliche Membranbildung, es entsteht in der Form des Tropfens ein körniger Niederschlag.

Die Niederschlagsmembranbildung zwischen 8 procentiger Lösung von essigsaurem Kupfer und concentrirter Wasserglaslösung schliesst sich dem Vorherigen nahe an. Auch hier wird eine Blase mit homogener Membran gebildet, die sich stark verdickt. Anfangs enthält die Blase noch Kupferlösung in ihrem Innern, nach 20 Minuten trübt sich der Blaseninhalt, indem innerhalb der festeren homogenen Membran ein Niederschlag entsteht. Man hat sich dies dadurch zu erklären, dass ebenso wie bei der Membranverdickung Wasserglas durch die Niederschlagsmembran dringt, dort aber nach dem Ausfällen eines Theils des essigsauren Kupfers nur noch mit einer wenig concentrirten Kupferlösung zusammenkommt, die einen einfachen Niederschlag bildet. Wesentlich ist hierbei, dass wir auf diese Weise einen Niederschlag erhalten, der aussen homogen, innen körnig ist; durch längeres Verweilen in der Wasserglaslösung wird die homogene Membran an ihrer Aussenseite etwas fein punktirt.

Ein ähnliches Resultat erhält man bei der Membranbildung von 2 % Gerbstofflösung in 8 % essigsaurem Kupfer. Die im ersten Moment entstehende Membran ist homogen durchsichtig, beim Dickenwachsthum derselben werden die innern Schichten jedoch körnig. Der Unterschied besteht darin, dass die homogene Schicht hier sehr dünn ist, während sie bei der vorigen Combination wesentlich dicker wird. Es entsteht hier also auch eine hyaline und eine Körnchenschicht wie beim Cytoplasma.

Ich lege auf derartige Bildungen besonderen Werth, da sie zeigen, dass auch bei Niederschlägen wie sie zwei Flüssigkeiten ergeben, Körper entstehen können, deren Schichten verschiedene Strukturen aufweisen, was bei der einfachen Fällung ohne Niederschlagsmembranbildung nicht eintritt.

Die körnigen Membranen, die bei nicht vollständig genügender Concentration der Membranbildner entstehen, sind entweder nur aus Körnchen gebildet oder es werden in einer Grundmasse liegende Körnchen ausgeschieden. Die letzteren können sich zu Stäbchen und Fibrillen vereinigen, so dass wir ähnliche Bilder erhalten wie bei der Niederschlagsbildung von Ferrocyankalium und essigsaurem Kupfer, nur dass die Körnchen niemals krystallinisch werden. Auf Taf. VI, Fig. 169 sehen wir eine derartige Membran, die durch die Berührung von 2 % essigsaurem Kupfer und 12 % Gerbsäure entstanden ist. Dagegen gibt 2 % essigsaures Kupfer und 2 % Gerbsäure nur einen körnigen Niederschlag.

Es bleibt nun noch übrig die künstlichen Strukturen zu besprechen, die durch Ausfällungen aus dem Zellsaft entstehen.

Der Zellsaft vieler Pflanzen enthält unter anderen Stoffen auch gummiartige Körper, die in vielen Fällen vielleicht auch mit eiweissähnlichen Stoffen vermengt sind. Man kann dieselben durch sehr mannigfaltige Mittel zur Ausfällung bringen, doch wird es schwer sein, bevor man die im Zellsaft vorhandenen Stoffe kennt, allgemein gültige Fällungsmethoden anzugeben, wie denn überhaupt inhaltsarme Zellen auch im Zellsaft nur wenig Stoffe enthalten werden. Ziemlich allgemein finden Ausfällungen statt durch Alkohol und Flemming'sche Mischung, woraus man jedoch noch nicht auf Proteinsubstanzen schliessen darf, indem z. B. in sehr vielen Fällen weder durch Sublimat, noch durch Picrinsäure oder Salpetersäure oder salpetersaures Silber ein Niederschlag entsteht, was doch sonst eintreten müsste.

Ferner entstehen Niederschläge durch wasserentziehende Substanzen, aber auch nicht durch alle gleich gut; gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia fällt vollständig, während Glycerin oder hochconcentrirte Zuckerlösung weit weniger wirksam sind. Durch den electrischen Strom entstehen sehr leicht Niederschläge. Ausserdem sind hierher wohl auch jene Ausfällungen zu rechnen, welche durch Eintritt von Anilinfarben in den Zellsaft oder durch Ammoniaksalze[1]) hervorgerufen werden. Bei genügend concentrirtem Zellsaft entstehen auch schon Ausfällungen, wenn man die Zellen in mit Chloroform geschütteltes Wasser einlegt, bei jungen Epidermiszellen von Braunkohlenblättern konnte ich dies sogar schon beim Einlegen in destillirtes Wasser beobachten, in welchem Falle man wohl an irgend eine Reizwirkung zu denken hat.

Charakteristisch für solche Ausfällungen ist, dass sie je nach der Methode der Niederschlagsbildung und auch nach der Geschwindigkeit der Einwirkung eines Reagenz wesentlich andere Formen annehmen. Hierdurch ist die an und für sich sehr unwahrscheinliche Annahme bestimmt ausgeschlossen, dass der Zellsaft eine eigenthümliche Struktur, ähnlich den protoplasmatischen Substanzen, besitze, was noch Flemming für möglich hielt.

Bei unmittelbarer und schneller Einwirkung einer fällenden Substanz, also wenn man dünne Schnitte direkt in absoluten Alkohol oder in Flemming'sche Mischung einlegt, entsteht ein Niederschlag, der aus feinen Körnchen oder kleinen Tröpfchen besteht und welcher den ganzen Zellsaftraum gleichmässig ausfüllt. Es wird bei einem Bilde, wie es sich z. B. beim Einlegen von Epidermisstücken einer Hyacinthenblüthe, Taf. VII, Fig. 180, in absoluten Alkohol ergibt, Niemand im Zweifel sein, dass es sich um einen einfachen Niederschlag im Zellsaft handelt. Die Körnchen können bei genügender Kleinheit Brown'sche Bewegung zeigen. Dass die Fixirung durch den absoluten Alkohol hier sehr schnell erfolgt, sieht man schon daraus, dass der Plasmasack nicht contrahirt wird, während er sich bei langsamen Tode ziemlich stark zusammenzieht.

---

[1]) Vgl. W. Pfeffer, Ueber Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen. Bd. II, 1886.

Bei langsamer Fällung scheiden sich im Zellsaft grössere Tropfen aus, die jedoch in ihrer Grösse wesentlich differiren, oder es werden kleinere Tropfen an der Innenseite des Cytoplasmaschlauches niedergeschlagen, die sich dann zu Fibrillen und mehr oder weniger weitmaschigen Netzen vereinigen können.

Die erstere Form kommt bei weitem am häufigsten vor, weil auch weniger inhaltsreiche Zellen bei vollständiger Ausfällung derartige Bilder liefern können, während netzförmige Niederschläge nur bei sehr inhaltsreichen Zellen zu finden sind. Am besten kann man das Gesagte an Zellen mit gefärbtem Zellsaft beobachten, indem die niedergeschlagenen Kugeln und Tröpfchen den Farbstoff sehr energisch anziehen. Ich nehme daher auf solche Zellen hier besonders Rücksicht.

Einige Beispiele werden die mannigfaltigen Erscheinungen am besten erläutern.

Dünnere Oberflächenschnitte von blauen Hyacinthenblüthen wurden in eine gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia gelegt. In unverletzten Zellen entstehen (Taf. VIII, Fig. 183) dichtere zusammenhängende, wenig scharf contourirte Massen, die durch Absorption des Farbstoffes dunkler erscheinen (Zelle a). Sie absorbiren nach und nach allen Farbstoff, so dass der Zellsaft farblos wird, zugleich zerfallen sie in kleinere Kugeln, die sich scharf gegen den übrigen Zellsaft abheben (Zelle b und c). In dieser Form wird Niemand die Niederschlagsnatur dieser Körper leugnen, eine Verwechslung mit Plasmastrukturen wird jedoch möglich, sobald in den ausgefällten Klumpen Vacuolen auftreten, die bei ihrer Vergrösserung die ungelöste Substanz zu Fäden und Fibrillen, zu einem Netze zusammendrängen. Es geschieht diese Sonderung bei längerem Liegen in einer nicht vollständig gesättigten Lösung. War der Zellsaft sehr inhaltsreich, so wird auch jetzt noch der vacuolige Niederschlag den ganzen Saftraum einnehmen, sich eng an das Cytoplasma anschliessen. Eine derartige Bildung habe ich auf Taf. VIII, Fig. 184 gezeichnet. Die Zellen der Hyacinthenblüthe hatten zuerst 24 Stunden in 10% schwefelsaurer Magnesia gelegen, das Protoplasma war verquollen, konnte also bei der Strukturbildung keinen Antheil haben; fügte man dann gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia hinzu, so entstand dieser in Fig. 184 abgebildete Niederschlag in Form des Zellsaftes.

Aehnlicher den von Frommann beschriebenen Netzstrukturen bildet sich der Niederschlag aus, wenn die ausgefällten Körper nicht den ganzen Zellsaftraum einnehmen; wir erhalten dann an dem Cytoplasma anliegend ein Netz, wie es uns Taf. VII, Fig. 182 aufweist. Zellen aus dem Blattstiel von *Rumex hamatus* wurden in 0,5 procentige Kalilauge gelegt, es erfolgte im Zellsaft sehr bald Ausscheidung von dichten, anfangs homogenen Kugeln. Nach einiger Zeit traten Vacuolen in diesem Niederschlag auf, die den Niederschlag in ein Netz verwandelten. Bei der innigen Verbindung mit dem Cytoplasmasack ist in diesem Stadium nicht mehr zu unterscheiden, ob dieses Netz zum Cytoplasma oder zum Zellsaft gehört. Nach längerem

Verweilen können derartige Ausfällungen erstarren, und so zur Annahme einer Struktur Veranlassung geben.

Interessant ist dieses locale Auftreten des Netzes aus dem Grunde, weil Frommann angibt, diese Netze fänden sich nicht an der ganzen Fläche des Cytoplasmas, sondern nur stellenweise. Diese localen Netzstrukturen sind aber nichts anderes, als die an bestimmten Stellen ausgeschiedenen Niederschläge, die später vacuolig wurden.

Das auf künstlichem Wege entstandene Netz kann jedoch auch über grössere Flächen ausgebreitet sein. So sehen wir z. B. an Epidermiszellen der Blumenblätter einer Tulpe (Taf. VII, Fig. 181), wo die Ausfällung durch den electrischen Strom bewerkstelligt wurde, an dem grössten Theile des Cytoplasmas ein Netz, das allmählig übergeht in einzelne Ringe, die dadurch entstanden sind, dass in Niederschlagskugeln Vacuolen aufgetreten sind, welche die ungelöste Substanz an die Peripherie gedrängt haben. Stossen solche Ringe in grösserer Anzahl aufeinander, so bildet sich das Netz. Da die ausgefällte unlösliche Substanz längere Zeit halbflüssige Consistenz behält und erst später gerinnt, ist ein derartiges Verschmelzen der einzelnen Ringe leicht möglich.

Ausser diesen allmählig entstehenden, mit Vacuolenbildung verbundenen Netzwerken können auch, wie ich schon oben angedeutet habe, durch bestimmte Aneinanderreihung der Niederschlagstheilchen sogleich Fibrillennetze entstehen.

Als Beispiel hierfür möchte ich die Ausfällungen in den Epidermiszellen der Blattunterseite junger Laubblätter von *Cypripedium venustum* anführen. Bringt man unverletzte Zellen in mit Chloroform geschütteltes Wasser, so entsteht im Zellsaft und wohl auch im Cytoplasma ein Niederschlag von grösseren oder kleineren Tropfen, welche den Farbstoff des Zellsaftes stark anziehen. In Fig. 185, Taf. VIII, sehen wir eine derartige Zelle, wo sich stellenweise grössere Tropfen angesammelt haben und zugleich auch kleinere Tröpfchen auf dem Cytoplasma niedergeschlagen wurden, die sich zu Fibrillen vereinigten. Man kann an den letzteren jedoch nicht immer diese Zusammensetzung aus Tröpfchen erkennen, häufig erscheinen die Fibrillen einfach fadenförmig. Es sind übrigens nicht immer beiderlei Niederschlagsformen an ein und derselben Zelle zugleich zu beobachten, ich habe hier nur eine solche Zelle abgebildet, um die Gleichartigkeit des kugeligen und fibrillären Niederschlags zu demonstriren.

Man kann nicht immer die Zusammensetzung des netzförmigen Niederschlags aus Körnchen verfolgen, sogar häufiger wird sogleich ein aus Fäden zusammengesetztes Netz ausgeschieden. Ich erwähnte schon oben, dass bei schnell verlaufender Ausfällung kleine Körnchen ohne Zusammenhang entstehen, so auch bei der Hyacinthenepidermis nach Einlegen in absoluten Alkohol. Wenden wir jedoch verdünnten Alkohol an, so entstehen nicht einzelne Körnchen, wie in Fig. 180, Taf. VII, sondern weit- und engmaschige Netzwerke, wie in Fig. 179, die zumeist nicht gleichmässig über das ganze

Cytoplasma vertheilt sind. Da das Cytoplastin in dem zur Hälfte mit Wasser verdünnten Alkohol langsamer coagulirt, schrumpft der Plasmasack hier ziemlich beträchtlich, während es im absoluten Alkohol annähernd in der ursprünglichen Lage fixirt wird. Analoge Bilder müssen wir auch im Alkohol absolutus erhalten, wenn derselbe nur langsam in die Zelle eindringt, also gewissermaassen erst verdünnt zur Wirkung gelangt.

Einen Fall analoger, netzförmiger Gerinnung hat übrigens schon Flemming[1]) abgebildet, wo an *Spirogyra* durch Zusatz von Osmiumsäure ebenfalls Netze entstanden waren.

Complicirter werden diese künstlichen Strukturen noch dadurch, dass im Cytoplasma durch die Einwirkung der fällenden Substanz, welche zugleich das Cytoplasma fixirt, andere Strukturen auftreten. Hierher gehören wohl jene Fälle, bei denen angegeben ist, dass die Maschen des Netzwerkes noch von feineren Fibrillengerüsten erfüllt sind.

Aus dem in diesem § Gesagten geht wohl zur Genüge hervor, wie mannigfaltig die Veränderungen sind, welche durch die sogenannten fixirenden Flüssigkeiten hervorgerufen werden. Wir haben gezeigt, wie die bei der Fällung entstehenden Strukturen vollständig den am Cytoplasma auftretenden Strukturen gleichen. Es ist uns gelungen, alle jene am Anfang dieses § angeführten Gerüst-, Fibrillen- und Netzformen des Cytoplasmas aus nicht organisirten Flüssigkeiten und Substanzen zu erzeugen, wodurch zu gleicher Zeit bewiesen wurde, dass man nicht berechtigt ist, aus den an fixirten Zellen auftretenden Bildern auf eine bestimmte Struktur zu schliessen. Einen anderen Beweis für die Existenz von Gerüsten etc. im Cytoplasma besitzt man jedoch nicht und auch die sonstigen Bewegungserscheinungen und Formveränderungen desselben weisen darauf hin, dass kein festes Gerüst besteht.

§ 29. Vacuolenbildung und Entmischung.

Ich habe schon bei der Quellung der Chlorophyllkörper in Wasser die Ansicht ausgesprochen, die Vacuolenbildung sei ein Beweis dafür, dass die Chlorophyllkörper aus einer zwar quellbaren aber unlöslichen und einer löslichen Substanz zusammengesetzt seien. Allgemeiner ausgedrückt würde der Satz lauten: Vacuolenbildung tritt nur dann ein, wenn lösliche Substanz mit einer unlöslichen von besonderen Eigenschaften vereint vorkommt. Es frägt sich nun, ist es richtig, aus dem Eintritt der Vacuolenbildung auf eine bestimmte Zusammensetzung zu schliessen, oder können Vacuolen auch ohne eine derartige Mischung entstehen?

Es wäre denkbar, dass ein begrenzt quellbarer Körper mehr Flüssigkeit von aussen aufnehmen könnte, als er in seinen Molecular- resp. Micellarinterstitien festzuhalten vermag. Diese Flüssigkeit würde sodann an den

[1]) Zellsubstanz, Kern etc. p. 51, Fig. A.

Stellen der geringsten Cohäsion in Tropfenform ausgeschieden werden müssen, ohne dass irgend welche lösliche Stoffe dazu nothwendig wären.

Die Darstellung der Vacuolenbildung in Pfeffers Physiologie (Bd. I. p. 35), die sich mit Hofmeisters[1]) Auffassung deckt, scheint mir eine derartige Möglichkeit nicht auszuschliessen; das Vorhandensein löslicher Stoffe wäre dann nur zur Ausdehnung, nicht aber zur Bildung der Vacuolen nothwendig.

Pfeffer sagt: „Die Bildung von Vacuolen, welche vielfach an Protoplasmakörpern stattfindet, wenn sie aus verletzten Zellen in Wasser übertreten (z. B. bei *Vaucheria, Nitella,* Wurzelhaaren von *Hydrocharis*), ist übrigens selbst ein Beispiel begrenzter Imbibitionsfähigkeit des Protoplasmas, denn die Vacuolen entstehen, indem wässerige Flüssigkeit innerhalb des Protoplasmas sich absondert, und solches ist nur möglich, weil das Protoplasma sich nicht wie ein löslicher Körper mit beliebig viel Wasser mengt. Sind in der ausgeschiedenen Vacuolenflüssigkeit Stoffe gelöst, so bringt deren osmotische Wirkung einen hydrostatischen Druck zu wege, welcher, wenn genügend, eine Ausdehnung der umhüllenden Plasmaschicht und eventuell deren Zerreissung und Desorganisation herbeiführt.“

Dass zur Vacuolenbildung nur begrenzt quellungsfähige Körper geeignet sind, so wie dass die Ausdehnung der Vacuolen durch osmotisch wirkende Stoffe geschieht, gebe ich ohne Weiteres zu, ich meine nur, dass Vacuolenbildung an das Vorhandensein der löslichen Stoffe gebunden sei.

Die Vacuolenbildung ist nach meiner Ansicht ein Entmischungsvorgang, bei welchem sich vorher homogen gemengte Substanzen derartig scheiden, dass die löslicheren sich in Tropfenform in dem unlöslichen ansammeln. In derselben Weise hat sich jüngst Berthold[2]) geäussert.

Zur Erklärung und Begründung dieser Auffassung verweise ich auf zwei Thatsachen. Erstens sind keine begrenzt quellbaren Körper bekannt, welche Vacuolen bilden, ohne dass sie lösliche Stoffe enthielten, zweitens kann man an Gemischen von löslichen und begrenzt quellbaren Substanzen bestimmter Qualität leicht Vacuolenbildung beobachten.

Würden begrenzt quellbare Körper ohne Mitwirkung löslicher Substanzen Vacuolenbildung zeigen können, so ist nicht einzusehen, warum die Vacuolenbildung überhaupt eine Grenze hat. Es müssten sich z. B. nach dem Platzen der Vacuolen in der zurückbleibenden Substanz sofort wieder neue Vacuolen bilden, was aber nicht geschieht.

Von quellbaren Körpern, die keine löslichen Stoffe enthielten, habe ich die Wasseraufnahme bei Gelatine, Leim und Agar-Agar in kaltem Wasser untersucht und niemals Vacuolenbildung beobachtet, obgleich diese Stoffe in kaltem Wasser entschieden nur begrenzt quellbar sind. Dasselbe Verhalten zeigt Fibrin in verdünnter Salzsäure, oder eingetrocknete Acidalbumine beim

---

[1]) Hofmeister, Die Lehre von der Pflanzenzelle 1867. p. 5.

[2]) Berthold, Studien über Protoplasmamechanik 1886. p. 64 u. 65.

Aufweichen. Ebenso tritt beim Erwärmen keine Vacuolenbildung ein. Bei der Quellung von Gummi arabicum, Weihrauch, sog. löslichem Leim in Wasser fehlt natürlich die Vacuolenbildung, da hier unbegrenzt quellbare Körper vorliegen.

Mischen wir in erwärmter Lösung Gelatine mit einer reichlichen Menge von Zucker, und lassen wir sodann durch Abkühlung die Lösungen gallertig werden, so entstehen beim Eintrocknen und wieder Anfeuchten der Gallerte keine Vacuolen. Mischt man ferner Kochsalzkrystalle unter Leim, der in der Wärme gelöst wurde aber noch zähflüssig geblieben war, so nimmt der Leim eine bestimmte Menge von Kochsalz auf, während der Ueberschuss in fester Form erhalten bleibt. Fügt man zu dem auf dem Objectträger eingetrockneten Leimtropfen, der Kochsalzkrystalle enthielt, Wasser hinzu, so quillt wohl der Leimtropfen, die Kochsalzkrystalle lösen sich umgeben von Leimsubstanz und vertheilen sich darin, Vacuolenbildung tritt jedoch nicht ein.

Diese Thatsachen beweisen uns, dass noch andere Factoren bei der Vacuolenbildung betheiligt sind, u. z. gehört dazu die Undurchlässigkeit der quellenden, aber unlöslichen Substanz für die gelöste Substanz. Beim Cytoplasma ist es das Plastin, welchem in hervorragender Weise die Fähigkeit zukommt, eine derartige undurchlässige Scheidewand zu bilden (vgl. § 30).

Diese Bedingungen zur Vacuolenbildung fand ich an nicht organisirten Materien vereinigt bei der Quellung von Mastix in Alkohol und bei der Wasseraufnahme eines Gemisches von löslichem und unlöslichem gerbsaurem Leim.

Der Mastix (das Harz von *Pistacia lentiscus*) besteht aus einem in Alkohol löslichen und einem unlöslichen Theil. Zieht man gepulverten Mastix mit heissem oder kaltem Alkohol aus, so löst sich die Hauptmasse desselben, es bleibt jedoch eine unlösliche Substanz zurück, die, so lange sie noch etwas Alkohol enthält, zähflüssig und fadenziehend ist, erst nach dem Trocknen wird sie hart. Die in Alkohol unlösliche Substanz ist in Alkohol beschränkt quellbar, in welchem Zustand sie dehnbar und bis zu einem gewissen Grade elastisch ist.

Bringt man Splitter des trockenen Harzes auf den Objectträger und fügt Alkohol absolutus hinzu, so tritt zunächst freiwillige Emulsionirung ein. Grössere und kleinere Tropfen lösen sich ab und vertheilen sich im Alkohol. Die abgelösten Tropfen sind anfangs vollständig homogen, bald zeigen sich jedoch in jedem Tropfen zahlreiche Vacuolen verschiedener Grösse. Die Emulsionirung ist unvollständiger oder unterbleibt gänzlich, wenn wir statt Alkohol abs. nur verdünnten Alkohol anwenden. Es trennen sich dann keine Tröpfchen los, wohl aber wird in den Mastixstückchen Substanz gelöst, welche sich in Tröpfchen, d. h. in Vacuolen innerhalb des Mastixstückes ansammeln. Grössere Vacuolen können ihren Inhalt an die äussere Flüssigkeit abgeben, namentlich wenn man noch etwas stärkeren Alkohol zusetzt, wodurch noch mehr Substanz gelöst wird. Die Vacuolenbildung erweist sich hier also eclatant als Entmischungsvorgang.

Es ist bekannt, dass löslicher Leim (Traube's β-Leim) mit Gerbstoff Niederschlagsmembranen bildet. Diese Niederschläge bestehen, wie dies schon Traube angibt, aus einer löslichen und einer unlöslichen Modification von gerbsaurem Leim. Dieselben entstehen nicht nur an der Grenze beider Flüssigkeiten, sondern bei der Bildung von sog. künstlichen Zellen auch innerhalb der Blasen.

Bei Herstellung dieser Niederschläge verfuhr ich folgendermaassen: Ich liess einen Tropfen gelösten Leims auf dem Objectträger auftrocknen, legte sodann ein Deckglas auf, meist mit Unterlegung von zwei dünnen Korklamellen, damit der Druck des Deckglases nicht hinderlich sei und der sich bildenden Blase hinreichender Spielraum zur Vergrösserung gewährt würde. Hierauf brachte ich die genügende Menge einer 6 proc. Gerbstofflösung unter das Deckglas. Sogleich bildete sich eine Niederschlagsmembran, die durch den quellenden Leim die erste Zeit ziemlich gleichmässig ausgedehnt wurde.

Bei der Bildung der Niederschlagsmembran war dieselbe homogen durchsichtig, ausserordentlich dünn. Dieses gleichmässige Wachsthum dauerte jedoch nicht lange. Blasenförmige Auftreibungen bilden sich an der ganzen Peripherie, welche gleichzeitig, die einen etwas langsamer, die anderen etwas schneller, sich ausdehnen. Es entstehen bei grösseren Leimtropfen auch Risse in der Membran, aus denen sich Leimlösung ergiesst, die jedoch sogleich mit einer dünnen, feinen Niederschlagsmembran umgeben wird. Die Membran bleibt nur kurze Zeit so homogen. Durch ungleichmässiges Wachsthum an einzelnen Stellen der Peripherie bilden sich Ausstülpungen, welche bei ihrer Vergrösserung seitwärts aufeinander stossen (vgl. Taf. VI, Fig. 172), ihre Membranen legen sich aneinander und verschmelzen zu radial verlaufenden Falten. Ausserdem werden noch durch ungleichmässige Verdickung der Membran zahlreiche Leisten gebildet, die oft netzförmig mit einander anastomosiren. Das Dickenwachsthum der Membran tritt besonders dann zu Tage, wenn die Vergrösserung der Blase, also das Flächenwachsthum der Membran, sistirt oder doch sehr herabgesetzt ist. Das Dickenwachsthum der Membran kann man auch an den soeben erwähnten radialen Falten verfolgen, die durch das Aneinanderlegen zweier Vorstülpungen entstanden sind und die deshalb von der direkten Berührung mit der Gerbstofflösung abgeschlossen sind. Ausser dem Dickenwachsthum der Membran beobachten wir innerhalb der Blase nach einiger Zeit Ausscheidung kleiner Kügelchen, u. z. ohne dass die Membran irgendwie verletzt wäre (Fig. 172). Dieser Niederschlag hat dieselbe stoffliche Beschaffenheit, wie die Niederschlagsmembran. Die Kugeln bilden sich nur an der Peripherie der Blase, vergrössern sich hier am stärksten, so dass wir an den äusseren Theilen die grössten Kugeln haben, die nach innen zu allmählig kleiner werden. Durch Aneinanderlegen und Verwachsung können aus den einzelnen Niederschlagskugeln auch umfangreichere Körper entstehen (Taf. VI, Fig. 170).

Durch die Ausfällungen und die Membranverdickung werden naturgemäss die beiden membranbildenden Flüssigkeiten allmählig sehr verdünnt, ist dies

eingetreten, so findet sowohl in der Membran als in den kugeligen Körpern die Entmischung statt, welche zur Vacuolenbildung führt. Waren die Membran und die kugeligen Körper vorher gleichmässig dicht (Taf. VI, Fig. 170 und oberer Theil der Fig. 173), so sieht man dann zunächst kleine Pünktchen resp. Tröpfchen auftreten, die sich allmählig vergrössern und durch ihre hellere Farbe von der übrigen Substanz abheben. Dabei kann man namentlich an den kugeligen Körpern eine Volumvergrösserung der ganzen Niederschlagsmasse constatiren. Anfangs besitzen die kleinen Vacuolen Kugelform, beim Wachsthum platten sie sich gegenseitig ab, wodurch ein mehr unregelmässig gestaltetes Netz entsteht (Fig. 173, unterer Theil). Die Niederschlagsmembranen sind gespannt, daher wölben sich die Vacuolen hier nur wenig oder gar nicht hervor, wie sie es ohne Spannung thatsächlich thun. Wir erhalten daher eine Membran, die aus dichteren Balken und weniger dichten, aber durch eine dünne Haut begrenzten Vacuolen besteht.

Ist noch Gerbstoff und Leim in genügender Menge vorhanden, so wachsen die Membranen noch weiter u. z. hauptsächlich an den Vacuolen. Bei Wiederholung des Entmischungsvorganges können nun hier in den Zwischenräumen des primären Netzwerkes wiederum Vacuolen entstehen, wodurch hier ein secundäres Netzwerk entsteht.

Wir müssen annehmen, dass sowohl in der Niederschlagsmembran, als in den kugeligen Körpern die beiden Modificationen des gerbsauren Leims, die lösliche und die unlösliche, gleichmässig vertheilt sind, und erst durch den später eintretenden Entmischungsvorgang werden beide Substanzen derartig gesondert, dass der unlösliche Theil, welcher immerhin eine gewisse Verschiebbarkeit seiner kleinsten Theilchen behält, die Vacuolenwandung, die lösliche Substanz, den Vacuoleninhalt bildet.

Ausserdem interessirt uns noch diese Netzbildung an der Membran, da sie an manche Strukturbilder erinnert, die an dem Cytoplasma auftreten und auch fixirt werden können. Bei langsamem Zutritt der Fixirungsflüssigkeit kann im Cytoplasma ebenfalls Entmischung eintreten, bevor noch die Proteinstoffe unlöslich gemacht worden sind. Allmählich erstarren derartige Bilder und verleiten dann zu der Annahme netzförmiger Strukturen, besonders da die dickeren Vacuolenwandungen Farbstoffe stärker imbibiren, als die dazwischenliegenden dünneren Stellen.

Vacuolenbildung kann man ferner noch bei Fichtenharz beobachten, welches in zur Hälfte mit Wasser verdünnten Alkohol gelegt wird. Das Fichtenharz wird zunächst in dieser Mischung leicht flüssig, jedes Harzstückchen rundet sich zu einem Tropfen ab, sodann tritt Vacuolenbildung im Innern des Tropfens auf, die um so schneller vor sich geht, je mehr Alkohol und je weniger Wasser vorhanden ist. Wenn sich auch das Fichtenharz in Alkohol absol. vollständig löst, so bleibt doch in verdünntem Alkohol ein Rückstand, der zähflüssig bis zu einem gewissen Grade beweglich ist, also haben wir auch bei dieser Vacuolenbildung die Mischung eines löslichen und unlöslichen Körpers vor uns.

In dieselbe Kategorie gehören auch die Tropfenausscheidungen von flüssiger Seife, die entstehen, wenn man fettsäurehaltiges Oel[1]) in eine wässerige Lösung von kohlensaurem Kali oder Dinatriumphosphat oder in verdünntes Ammoniak bringt. Allerdings tritt hier sehr leicht Emulsionirung ein, d. h. die ganze Oelmenge wird in einzelne Tröpfchen vertheilt. Diese Emulsionirung unterbleibt und es treten blos Vacuolen auf bei bestimmtem Fettsäuregehalt und bestimmter Löslichkeit der gebildeten Seifen.

Halten wir uns direct an diese Beobachtungen an nichtorganisirten Körpern, so sehen wir einerseits, dass an homogenen Körpern bei der Quellung niemals Vacuolenbildung zu beobachten ist, andererseits tritt dieselbe ein, sobald Mischungen mindestens zweier Stoffe vorliegen, von denen der eine in der umgebenden Flüssigkeit löslich, der andere unlöslich ist und undurchlässig für die gelöste Substanz. Diese letztere Beobachtung dürfen wir auch auf das Protoplasma übertragen und hier ebenfalls eine analoge Zusammensetzung annehmen. Es ist daher erlaubt, aus dem Eintritt der Vacuolenbildung auf eine Zusammensetzung aus löslichen und unlöslichen Substanzen von bestimmten Eigenschaften zu schliessen.

Zum Verständniss dieses Entmischungsvorganges, welcher bei der Vacuolenbildung eintritt, fehlt uns noch die Kenntniss jener Kräfte, durch welche die Trennung vorher gleichmässig gemischter Substanzen bewirkt wird.

Bei der Erörterung dieser Frage gibt uns die Thatsache einen Anhaltspunkt, dass Vacuolenbildung in verschiedenen Fällen, bei Harzen, fettsäurehaltigen Oelen in Emulsionsbildung übergehen kann.

Nach G. Quincke[2]) breitet sich Seifenlösung an der Grenzfläche von fetten Oelen mit Wasser oder wässerigen Salzlösungen aus. Durch die Ausbreitung der Seifenlösung entstehen Wirbelbewegungen im Innern des Oels und der umgebenden Flüssigkeit, einzelne Oeltröpfchen werden in die umgebende Flüssigkeit hereingerissen und bilden hier die kleinen Oelkugeln einer Emulsion. Eine derartige Emulsionirung kann bei einem Tropfen fetten Oeles, den man auf eine sehr verdünnte Sodalösung gebracht hat, eintreten, da schon ausserordentlich geringe Mengen von Seife, die mikroskopisch oder auf andere Weise nicht mehr nachzuweisen sind, genügen, um die Ausbreitungserscheinungen und die dadurch hervorgerufenen Bewegungen der ganzen Oelmasse herbeizuführen. Die in einem Tropfen fetten Oeles vorhandene Fettsäure genügt in den meisten Fällen zur Erzeugung der nothwendigen Seifenmenge.

Die Emulsionsbildung hängt ferner ab von der Zähigkeit des zu emulsionirenden Körpers, von der Menge des vorhandenen löslichen Stoffes und dessen grösserer oder geringerer Löslichkeit. Diese Factoren werden es sein, welche bestimmen, ob Emulsionsbildung überhaupt eintritt, oder ob die in der Flüssigkeit vorhandenen Strömungen und Bewegungen nur zur Ent-

[1]) An fast allen Oelen (mit Ausnahme des Ricinusöles) zu constatiren.

[2]) G. Quincke, Pflüger's Archiv für die gesammte Physiologie. Bd. 19, 1879, p. 129—144.

mischung, zur Vacuolenbildung führen. Unter Umständen kann man auch an dem Cytoplasma ein Losreissen einzelner Tropfen und Vacuolen beobachten, was entschieden dafür spricht, dass ebenso wie bei den Oelen (und Harzen), auch bei dem Cytoplasma Emulsion und Vacuolenbildung einen inneren Zusammenhang aufweisen.

Nach meiner Ansicht können demnach Bewegungen, welche an der Grenzfläche zweier Körper entstehen, den Anstoss zur Trennung der löslichen und unlöslichen Körper im Cytoplasma geben.

Es ist jedoch nicht gesagt, dass bei organisirten Körpern die Vacuolenbildung immer hierdurch veranlasst wird. Es können wie z. B. bei den Chlorophyllkörpern zwei schon vorher ungleichmässig vertheilte ungelöste Stoffe durch den Hinzutritt eines Lösungsmittels derartig geschieden werden, dass sich die eine Substanz in Tropfenform innerhalb der anderen ansammelt. Da in diesem Falle die beiden Stoffe schon vor der Vacuolenbildung local getrennt waren, werden jene inneren Strömungen und Bewegungen, welche die locale Trennung der Stoffe bewirken sollen, überflüssig, diese Art von Vacuolenbildung kann demnach auch ohne dieselben eintreten.

§ 30. Einwirkung von Wasser auf das Cytoplasma.

Reagentien, welche das Cytoplasma sogleich tödten, machen es auch durchlässig für die hinzugefügten Stoffe, welche auf diese Art vollständig zur Wirkung gelangen können. Anders verhält es sich jedoch bei indifferenteren Stoffen, speciell bei der Einwirkung von Wasser. Destillirtes Wasser kann unter Umständen ebenfalls die Zellen tödten, so z. B. gehen Wurzelhaare, die vorher in sehr trockener Erde wuchsen, oder manche Spermatozoiden bald zu Grunde, wenn sie in destillirtes Wasser kommen; die Regel ist jedoch, dass an unverletzten Zellen Wasser keine Veränderungen hervorruft. Die Einwirkung des Wassers tritt demnach erst zu Tage beim Tödten und Verletzen der Zellen. Ich werde am Schluss dieses § auf diese Thatsachen noch näher eingehen, vorläufig seien hier jene Veränderungen besprochen, welche beim Verletzen der in Wasser liegenden Zellen eintreten.

Bei den durch Druck oder Anschneiden verletzten Zellen haben wir ausser der durch den freien Wasserzutritt hervorgerufenen Entmischung nur noch die Stoffe des Zellsaftes zu berücksichtigen, welche jedoch hier relativ weniger intensiv wirken, als bei den Kernen, aber ungefähr in derselben Weise wie bei den Chlorophyllkörpern. Abgesehen von der Einwirkung des Zellsaftes, zeigt das Cytoplasma verschiedener Zellen folgende Veränderungen.

In sehr jungen Zellen in der Nähe der Vegetationspunkte von Stengeln und Wurzeln oder an jungen Blättern tritt an verletzten Zellen in Folge der Wasserwirkung eine sehr starke gleichmässige Volumvergrösserung ein, das ganze Cytoplasma bildet einen sehr zarten, durchsichtigen, jedoch meist feinpunktirten Niederschlag. Die einzelnen Körnchen des Niederschlags treten wenig scharf hervor, so dass bei schwächeren Vergrösserungen das

aufgequollene Cytoplasma homogen erscheint. Das Aufquellen kann so weit gehen, dass man in Zweifel geräth, ob nicht wirklich Lösung eingetreten ist, indem die feine Punktirung auch mit den stärksten Linsen nicht mehr wahrzunehmen ist. Diese durchsichtige Gallerte kann jedoch durch Zusatz von Fällungsmitteln noch als Niederschlag sichtbar gemacht werden, was bei vollständiger Lösung nicht mehr möglich wäre, da hier die gelöste Substanz einfach weggewaschen würde. Theilweise erkennt man auch Grenzcontouren an der gequollenen Plasmamasse, besonders wenn die Quellung noch nicht zu weit gegangen ist. Charakteristisch für diese Quellungsart ist noch, dass Vacuolenbildung nicht auftritt.

Die stärkste Quellung bis zum Homogenwerden konnte ich in der Nähe des Vegetationspunktes an jungen Keimlingen von *Vicia faba, Vicia sativa* und *Pisum sativum* beobachten, ferner an den Knospen von *Betula alba* und *Ulmus corylifolia,* sowie an der Wurzelspitze junger Keimlinge von *Pisum sativum.*

Feinpunktirt, aber auf das mehrfache Volumen ausgedehnt, zeigte sich das Cytoplasma an den Vegetationspunkten des Stengels und der Wurzel von *Phaseolus multiflorus,* an jungen, in der Zwiebel eingeschlossenen Trieben von *Allium sativum,* an jungen Blättern von *Beta rubra* und an der Vegetationsspitze junger, dicker, oberirdischer Wintertriebe von *Solanum tuberosum.*

Ich habe die eben besprochenen Erscheinungen noch oft beobachtet, ohne mir jedoch die Pflanzen zu notiren. Die hier angeführten Fälle sind daher nur als Beispiele anzusehen. Namentlich treten diese Quellungen ohne Vacuolen an den jüngsten Theilen der Pflanzen auf.

An etwas älteren, jedoch nicht an ganz alten, plasmaarmen Zellen beobachten wir die zweite Art der Quellung.

Das Volumen des Cytoplasmas wird vergrössert, es tritt jedoch bald Vacuolenbildung auf, d. h. eine Trennung der gelösten Substanz von der beschränkt quellbaren aber unlöslichen Substanz. Die letztere ist meist homogen, kann jedoch auch feinpunktirt aussehen. Da die Vacuolenflüssigkeit sich häufig von der übrigen sehr durchsichtigen Substanz nur wenig abhebt, ist es von Vortheil, die gequollene Masse durch Flemming'sche Mischung oder durch Jod zu fixiren, wodurch die Vacuolen resp. die Vacuolenwand deutlicher hervortreten. Die Form der Vacuolen hängt wesentlich von der Consistenz des Cytoplasmas ab. Ist dasselbe flüssiger, d. h. weniger zäh, so nehmen die Vacuolen Kugelgestalt an. Die ursprünglich ungefähr überall gleich mächtige Cytoplasmaschicht wird an den Stellen der Vacuolen hervorgewölbt. Wir erhalten unter Umständen, besonders wenn die Dicke der wandständigen Plasmaschicht nicht zu gering ist, ein Bild, welches der vacuolenbildenden Niederschlagsmembran von gerbsaurem Leim (Taf. VI, Fig. 173) nicht unähnlich ist. So z. B. bei jüngeren Zellen der Wurzel von *Pisum sativum*, wenige Millimeter von der Spitze entfernt, deren Oberflächenansicht (Taf. VII, Fig. 174) uns die annähernd kugeligen Vacuolen über die ganze Wandfläche vertheilt zeigt. Diese Quellung tritt ein bei ziemlich jungen Zellen, die

nur wenig verletzt sind, vielleicht nur durch Druck, ohne angeschnitten zu sein. Dies Stadium bleibt längere Zeit erhalten, bis die Vacuolen undeutlicher werden, indem die Vacuolenwand selbst noch quillt. Bei weitergehender Quellung, ebenso bei stärker verletzten Zellen vergrössern sich die Vacuolen noch ziemlich bedeutend, die Zwischensubstanz wird weniger scharf begrenzt und wir erhalten ein Bild wie Fig. 175, Taf. VII. Von den in der unverletzten Zelle ursprünglich vorhandenen Fäden (Taf. V, Fig. 157) sind noch Reste zu sehen. Dieselben verschwinden jedoch nach und nach vollständig, theils werden sie vom Cytoplasma eingezogen, theils werden sie selbst vacuolig.

Wegen der starken Quellung der Vacuolenwand und weil die Vacuolen selbst häufig platzen, ist es nothwendig, um ein gutes Vacuolenbild zu erhalten, die angeschnittenen Zellen sehr bald nach der Verletzung zu fixiren, da sonst die Desorganisation zu weit vorgeschritten ist. In den Endstadien der Quellung finden wir häufig auch isolirte Kugeln, welche durch Freiwerden mit plastischer Substanz umgebener Vacuolen entstanden sind.

Unter Vermeidung von fällenden Substanzen erhält man sehr gute Vacuolenbilder, wenn man verletzte Zellen unmittelbar in Hühnereiweiss legt. Wie wir an der Zelle eines Rothkrautblattes (Taf. VII, Fig. 176) sehen, bleibt der Cytoplasmakörper und die Vacuolen in dem Eiweiss erhalten, ohne weiter zu verquellen. Das Cytoplasma ist geschrumpft und nimmt einen kleineren Raum ein als in der unverletzten Zelle, ohne jedoch eigentlich gefällt zu sein.

Erweist sich das Cytoplasma als consistenter, so wird dadurch auch die Form der Vacuolen etwas modificirt. Die Vacuolen streben ebenfalls zur Kugelform hin, da aber die Zwischensubstanz diesem Bestreben einen grösseren Widerstand entgegensetzt, so nehmen sie mehr eine unregelmässige Gestalt an. Auf Taf. VII, Fig. 177 sind zwei Zellen von Staubfadenhaaren der *Tradescantia virginica* abgebildet. Die abgeschnittenen Haare hatten 24 Stunden in Hühnereiweiss gelegen, waren am Absterben und in Folge dessen vacuolig geworden. Anfangs ist der Zellsaftraum (Zelle a) noch vollständig gegen das gequollene Plasma abgegrenzt, die dem Zellsaft angrenzende innere Plasmaschicht blieb im Zusammenhang und hemmte so die Ausdehnung der Zellen in radialer Richtung, dieselben erscheinen daher etwas flach gedrückt und da sich ausserdem die Vacuolenwandung nicht vollständig der Tropfenform der Vacuolenflüssigkeit anschmiegt, so erhalten wir ein Balkensystem, dessen Zwischenräume von dem Vacuoleninhalt erfüllt sind. Platzt bei weiterer Wasseraufnahme die Grenzschicht zwischen Zellsaft und Cytoplasma, so gerathen die Vacuolen durch einander, die ganze Zelle wird schaumig (Zelle b in Fig. 177).

Ist der plasmatische Wandbelag ziemlich dünn und nur an einzelnen Stellen etwas mächtiger, so bilden sich Vacuolen nur an den dickeren Stellen aus. So konnte ich z. B. an der Flächenansicht von Zellen aus Rothkrautblättern beobachten, dass nur stellenweise Vacuolen gebildet waren, während die übrige Cytoplasmamasse homogen blieb. Die Vacuolen sind hier von

etwas dichteren Kreisen begrenzt, welche wahrscheinlich dadurch entstanden sind, dass die Vacuolenflüssigkeit bei ihrer Ausdehnung die plasmatische Substanz ringsherum etwas zusammengedrängt hat. Stossen solche Vacuolen auf einander, so können sie sich gegenseitig abplatten, wodurch ein derartig local ausgebildetes Netzwerk entsteht, wie es Frommann als Struktur des Cytoplasmas beschreibt.

Im fertigen Zustande ist dies Netzwerk nicht immer leicht von jenen Gebilden zu unterscheiden, welche durch das Vacuoligwerden im Zellsaft ausgefällter Kugeln (vgl. Taf. VII, Fig. 182) entstanden sind. Stellt man auf den Querschnitt einer solchen vacuolig gewordenen Zelle ein (Taf. VII, Fig. 178), so erkennt man mit Leichtigkeit den Zusammenhang der Vacuolen mit dem Cytoplasma.

Erwähnt mag noch werden, dass unter Umständen, speciell wenn das Cytoplasma etwas leichtflüssiger ist, statt der Vacuolenbildung auch homogene Quellung eintreten kann, es fehlt die Entmischung, die Grenzschichten des Cytoplasmas nach aussen und innen bleiben jedoch immer etwas dichter, so dass die grössere Menge des Wassers sich in den dazwischen befindlichen Schichten ansammelt, ohne sich jedoch in Tropfenform auszuscheiden.

Die eben besprochenen Erscheinungen treten bei der grossen Mehrzahl der Zellen auf, deren Zellsaftraum sich abgesondert hat, deren Cytoplasmabelag jedoch noch nicht zu dünn geworden ist. Als Beispiele möchte ich nennen die Keimlingswurzel von *Phaseolus multiflorus,* die jungen Stengeltheile von *Helianthus-* und *Lupinus*keimlingen, sowie die Stengel von *Humulus lupulus,* ferner die Blattzellen von *Cypripedium venustum* und *Oncidium suave* und *Allium porrum.*

Die dritte und letzte Kategorie der Wasserwirkung liefern jene Zellen, bei denen nach dem Verletzen gar keine oder nur eine sehr geringe Quellung des Cytoplasmas eintritt. Die Volumvergrösserung ist gleich Null oder doch sehr gering, die Vacuolenbildung unterbleibt vollständig.

Das Cytoplasma zieht sich zusammen und bildet einen geschrumpften Sack mit mehr oder weniger deutlichen Fällungsstrukturen. Diese Art der Wasserwirkung beobachten wir einerseits an sehr plasmaarmen, alten Zellen, andererseits an plasmareichen und jungen Pflanzentheilen, wenn dieselben eine grössere Menge von Gerbstoff enthalten. In dem letzteren Falle liegt eine direkte Fixirung vor, ganz in derselben Weise wie bei Chlorophyllkörpern und Zellkernen. Das Cytoplasma ist jedoch relativ weniger empfindlich gegen fällende Substanzen als der Zellkern, weshalb in manchen Pflanzentheilen, wo der Zellkern unlöslich ist beim Verletzen der Zellen, das Cytoplasma noch etwas aufquillt. Es ist dies leicht begreiflich, da beim Cytoplasma die grössere Menge der Wasseraufnahme resp. die Vacuolenbildung nicht durch die bei der Fällung unlöslich werdenden Eiweissstoffe, sondern durch andere lösliche Substanzen erfolgt, während im Kern die Proteinstoffe bedeutend überwiegen und die eigentliche Ausdehnung und Vacuolenbildung von denselben herrührt.

In alten plasmaarmen Zellen mögen wohl auch derartige Fixirungen durch den Zellsaft vorkommen, ausserdem kommt jedoch noch der geringere Gehalt des Cytoplasmas an löslichen Substanzen in Betracht, wodurch ebenfalls die Vacuolenbildung erschwert oder gar hintangehalten wird.

Ausser an alten Zellen konnte ich Fixirung des Cytoplasmas beobachten bei Knospen von *Alnus glutinosa, Corylus avellana, Aesculus hippocastanum*, an Blättern von *Quercus, Oncidium altissimum.* Sehr geringe Quellung trat ein (ohne Vacuolenbildung) bei Keimlingen von Rothklee, älteren Blättern von *Blechnum occidentale,* älteren Stengeln von *Mentha piperita* und *Geranium Robertianum,* in den äusseren Zwiebelschalen von *Allium cepa.*

Unter Berücksichtigung der im vorigen § über die Vacuolenbildung festgestellten Thatsachen geben uns die eben beschriebenen Erscheinungen in mancher Beziehung Aufschluss über die Beschaffenheit des Cytoplasmas. An sehr jungen Pflanzenzellen geht die Quellung am weitesten, es kommt zu keiner Vacuolenbildung, da sich die löslichen Substanzen des Cytoplasmas mit den übrigen mischen, während in älteren Pflanzenzellen die Quellung der plastischen Substanz eine beschränkte ist, also im Vergleich zu den Jugendstadien abnimmt, und in Folge dessen kommt es zur Vacuolenbildung. Die Vacuolenbildung selbst wird im weiteren Verlauf schwächer und dies lässt wiederum auf eine Abnahme der im Cytoplasma gelösten Stoffmenge schliessen.

Man könnte nun vielleicht der Ansicht sein, dass in den jüngsten Zellen überhaupt keine Mischung von löslichen und quellbaren Körpern vorliegen würde, dies ist jedoch nicht richtig, indem man bei sehr geringen Verletzungen der Zellen, speciell auch wenn man den Wasserzutritt hemmt, indem man die Schnitte in Hühnereiweiss legt, auch dann Vacuolenbildung erzielt, wenn bei unbeschränktem Wasserzutritt homogene Quellung erfolgt. Durch geringfügige Verletzungen, Druck etc. wird das Cytoplasma wohl imbibitionsfähiger für Wasser gemacht, aber so lange die Zellwand dasselbe umgibt, ist der Volumvergrösserung und somit auch dem Wasserzutritt eine Schranke gesetzt. Geschieht das letztere nicht, so quillt die sonst nur beschränkt gequollene Masse weiter, ja bei längerem Liegen des vacuoligen Cytoplasmas kann die beschränkt gequollene Masse aus den Vacuolen noch Flüssigkeit aufnehmen.

Die grössere Quellbarkeit des Cytoplasmas an den Vegetationspunkten steht höchst wahrscheinlich mit dem grösseren Gehalt junger Pflanzentheile an Kalisalzen in Verbindung. Kalisalze erhöhen (vgl. § 32) die Quellbarkeit des Cytoplasmas, sobald dieselben der lebenden Zelle von aussen zugeführt werden. Denselben Effect muss eine grössere, schon im Protoplasma vorhandene Kalimenge erzielen.

Die Vacuolenbildung an sich zeigt uns ferner, dass die Substanz, welche die Wandung liefert — wie wir später sehen werden, ist es das Cytoplastin — undurchlässig ist für die gelösten Stoffe, sonst könnte ja eine Ausdehnung der Vacuolen überhaupt nicht erfolgen. Diese Undurchlässigkeit kann sich auch auf Farbstoffe erstrecken. So fand ich bei Epidermiszellen vom

Braunkohl mit violettem Zellsaft, dass beim Vacuoligwerden der Zellen Farbstoff aus dem Zellsaft in die Vacuolen übertrat, aber das Plastin tingirte sich nicht, ähnlich wie in Fig 188, Taf. VIII. In minimaler Menge wird ja Farbstoff durchgehen, es kann dieser Farbstoff jedoch in den Vacuolen gespeichert werden, ohne dass die Vacuolenwandung sich färbte. Das Plastin ist es also, welches die relative Undurchlässigkeit für gewisse organische Stoffe bedingt.

Ein besonderes Interesse beansprucht noch die Frage, was für Substanzen bilden die Vacuolenwand und den Vacuoleninhalt?

Wir haben gesehen, dass bei den Chlorophyllkörpern Vacuolen dadurch entstehen, dass eine stark quellbare Proteinsubstanz schliesslich in Lösung übergeht, während die Vacuolenwandung von einer anderen nur beschränkquellbaren Proteinsubstanz gebildet wird. Beim Cytoplasma ist der Sachverhalt ein anderer. Die Vacuolen enthalten keinen Proteinstoff, sondern nur andere Substanzen, der Vacuoleninhalt ist gleich von Anfang an eine Lösung und nicht wie bei den Chlorophyllkörpern zunächst eine stark gequollene, später gelöste Substanz. Die Abwesenheit von Proteinstoffen im Vacuoleninhalt lässt sich durch den Zusatz von Substanzen erweisen, welche Proteinkörper leicht fällen. Fügt man zu den kurze Zeit in Wasser gelegenen verletzten Zellen Jod, Flemming'sche Mischung, Picrinsäure, Alkohol abs., verdünnte Lösung von Ferrocyankalium uud Essigsäure oder von Sublimat hinzu, so schrumpft die gequollene Masse, auch die Vacuolen werden kleiner, sie enthalten aber keinen Niederschlag, also auch keine Proteinkörper. Der fällbare Stoff des Cytoplasmas bildet demnach die Vacuolenwandung, die letztere ist nach der Fixirung homogen oder fein punktirt und bei weiterer Behandlung mit den verschiedenen Reagentien erweist sie sich als identisch mit dem Plastin. Eine Zusammensetzung der Vacuolenwandungen aus verschiedenen Proteinstoffen ist jedoch durch keine einzige Reaction wahrscheinlich gemacht.

Leider kann man am Vegetationspunkt selbst die Vorgänge bei der Fällung nur unvollständig verfolgen, es entsteht dort ein gleichförmig körniger Niederschlag, es ist daher sehr wohl möglich, dass in diesen Zellen auch Eiweissstoffe neben dem Plastin vorkommen, so namentlich die durch die Biuretreaction angezeigte Substanz, welche ich als metaplastischen Stoff bezeichnet habe (pag. 128). Bemerkenswerth ist noch, dass der gefällte Rückstand verletzter Zellen an Masse relativ gering ist im Vergleich zu dem Cytoplasmaniederschlag unverletzter Zellen. Theilweise beruht dies wohl auf Täuschung, indem der in seiner ursprünglichen Lage fixirte Cytoplasmabelag einen grösseren Raum ausfüllt, als der in der Mitte der Zellen zusammengeschrumpfte Sack verletzter Zellen. Ausserdem sind beim Verletzen der Zellen Stoffe hinweggelöst, welche im normalen Zustande noch vorhanden waren und den Cytoplasmaniederschlag voluminöser werden liessen. Ich hebe diese Thatsachen besonders hervor, weil z. B. Zacharias aus dem Zurückbleiben eines kleineren Plastinschlauches nach der Einwirkung von

Pepsin auf eine partielle Verdauung schliessen zu müssen glaubte. Es sind aber keine Stoffe verdaut und dadurch erst löslich gemacht worden, sondern nach dem Absterben in der Verdauungsflüssigkeit wurden dieselben Stoffe herausgelöst, wie bei der Wasserwirkung, es konnte also hier auch, ohne dass Stoffe verdaut worden wären, nur ein Rest übrig bleiben, der dem Volumen nach kleiner war als das Cytoplasma der lebenden Zelle. Membranartig differenzirte Grenzschichten sind in keinem Falle sichtbar zu machen gewesen.

Der Plastingehalt des Cytoplasmas ist aber noch in einer anderen Hinsicht von grosser Bedeutung, und zwar glaube ich, dass dieser Stoff in hervorragender Weise bei der Bildung der sog. Plasmamembran betheiligt ist. Pfeffer[1]) hat es sehr wahrscheinlich gemacht, dass an der Oberfläche von Protoplasmakörpern durch die Berührung mit reinem Wasser eine Niederschlagsmembran entsteht, welche unter der Mitwirkung mancher anderer Faktoren jene Eigenschaften erlangt, die wir an der lebenden Zelle wahrnehmen. Nach meiner Ansicht handelt es sich hier um eine Fällung, oder richtiger gesagt um die Bildung einer sehr dünnen Coagulationsschicht, welche durch die Berührung des Plastins mit Wasser entsteht. Lassen wir nämlich den gequollenen Zellinhalt längere Zeit in Wasser liegen, so tritt vollständige Coagulation ein, d. h. das vorher leicht dehnbare und zähe Plastin wird starr und unbeweglich und erhält ein Aussehen, als ob es mit fixirenden Substanzen behandelt worden wäre. Wir können Pflanzentheile tödten ohne das Cytoplasma direct zu fällen, z. B. durch Frost, oder durch Druck oder durch Fäulniss; untersuchen wir dann das Cytoplasma nach längerem Verweilen in Wasser, so stellt sich heraus, dass in der Zelle nur noch ein kleiner geschrumpfter, coagulirter Rückstand zurückgeblieben ist, welcher dem Plastingehalte entspricht. Diese Coagulation, welche schliesslich das ganze Cytoplasma verletzter Zellen verändert, wird bei der lebenden Zelle auf die Grenzschichten beschränkt bleiben, indem in der lebenden Zelle durch den Gehalt an Alkalien oder vielleicht auch durch andere Faktoren die Coagulation des ganzen Cytoplasmakörpers hintangehalten wird. Sehr verdünntes freies Alkali, sowie Dinatriumphosphat verhindern die Coagulation und so bleibt die Niederschlagsbildung auf die äussersten Schichten beschränkt; erst wenn die Alkalien aus dem Plastin herausdiffundiren, kann das vollständige Erstarren des Plastins stattfinden. Die Entfernung des Alkalis dauert jedoch längere Zeit und deshalb erfolgt die Coagulation nicht sogleich. Wir haben im § 6 die Thatsache wahrscheinlich gemacht, dass im lebenden Protoplasma das Alkali chemisch gebunden ist, dies würde uns erklären, wieso hier das Alkali nicht herausdiffundirt, während dies im getödteten Zustande geschieht, wo das Alkali nur durch Oberflächenanziehung ähnlich wie ein Farbstoff festgehalten wird.

Die oberflächliche Coagulationsschicht ist ausserordentlich dünn, so dass

[1]) W. Pfeffer, Osmotische Untersuchungen 1877. p. 134.

wir sie unter dem Mikroskop nicht direkt als Haut wahrnehmen können. Dies hat nichts Ueberraschendes, indem ja auch dünne Niederschlagsmembranen an den Traube'schen Zellen vollständig unsichtbar sind und erst nach beträchtlichem Dickenwachsthum mikroskopisch nachweisbar werden. Das Dickenwachsthum der Oberflächenmembran unterbleibt aus den soeben angeführten Gründen an der lebenden Zelle und somit gelangt die sog. Plasmamembran niemals zur direkten Beobachtung.

Bei Plasmolyse der Zellen wird, wie bekannt, die Hautschicht vom übrigen Cytoplasma wieder aufgenommen, ich glaube, dass es sich hier um eine Lösung durch Alkalien handelt und nicht etwa um eine Verdauung durch Fermente, welche im Cytoplasma vorhanden wären. Nach meinen Erfahrungen beanspruchen derartige Verdauungen immer längere Zeit, weshalb sich in diesem Falle die Anwesenheit einer festeren Membran durch die Gestaltung der Oberfläche des Cytoplasmas verrathen musste. Zu einer Lösung genügt jedoch die Zeit, innerhalb welcher die Contraction erfolgt. Bei der Wiederausdehnung plasmolysirter Zellen wird die Plasmamembran, indem sie wächst, der eintretenden Oberflächenvergrösserung leicht folgen können, so lange die Ausdehnung nicht zu schnell erfolgt. Bei rascher Ausdehnung dagegen tritt leicht ein Platzen der Plasmamembran ein und da zur Neubildung an entstandenen Rissen eine gewisse Zeit gehört, indem die Coagulation an der Oberfläche des Cytoplasmas sich nicht momentan bildet, wird Wasser in das Innere aufgenommen werden und so das Cytoplasma desorganisirt. Ein Platzen der Plasmamembran tritt besonders dann leicht ein, wenn dieselbe durch längeres Verweilen im plasmolysirten Zustande starrer und weniger dehnbar geworden ist.

Für die Entstehung der Membran aus Plastinsubstanz spricht auch die Thatsache, dass alle jene Substanzen, welche das Plastin fixiren, die Bildung und das Wachsthum der Membran zu unterdrücken vermögen. Es ist wohl möglich, z. B. durch Osmiumsäure, oder, wie Pfeffer[1]) angibt, durch sehr verdünnte Salzsäure die bestehende Plasmamembran zu fixiren und mit ihren osmotischen Eigenschaften zu erhalten, aber Wachsthum einer derartigen Membran findet nicht mehr statt, da das ganze Plastin unlöslich gemacht wurde.

Für uns hat diese Art der Plasmamembranbildung noch specielles Interesse, indem uns hierdurch klar wird, warum wir bei der Behandlung mit den verschiedenen Reagentien keine chemisch differente Membran finden konnten. In der Wirkung der hinzugesetzten Substanzen machte sich zwischen Plasmamembran und dem übrigen Plastin höchstens hier und da ein quantitativer Unterschied geltend, indem die Quellung oder Lösung etwas früher oder später eintrat, weiter waren jedoch keine Differenzen zu beobachten. Dies Verhalten ist also wesentlich anders, als bei der Kernmembran, wo die chemische Verschiedenheit des Kerninhaltes leicht nachzuweisen war.

---

[1]) l. c. p. 135.

Nicht vollständig identisch mit der äusseren Plasmamembran ist die jüngst von De Vries[1]) beschriebene Vacuolenwand. Sterben Zellen langsam ab, so kann die Begrenzung des Zellsaftes noch erhalten bleiben, wenn das Cytoplasma schon getödtet ist. Ich habe derartige Bilder wie De Vries sie gibt, selbst gesehen und bin zur Ueberzeugung gekommen, dass es sich um eine Niederschlagsmembran handelt, welche entsteht, wenn der Zellsaft mit gewissen Substanzen in Berührung kommt. An verschiedenen Figuren von De Vries (l. c. Taf. XXI, Fig. 7a und 7b, Fig. 9, Taf. XXII, Fig. 2) erkennt man deutlich, wie jeder isolirte Tropfen des Zellsaftes sich mit einer ringsum geschlossenen Niederschlagsmembran umgeben hat, die nicht in der ursprünglichen Zelle vorhanden gewesen sein kann. Die Vacuolenwand ist daher sehr wahrscheinlich überhaupt nur ein Kunstproduct, welches erst bei dem Absterben der Zellen entstanden ist.

Ich will hier nicht die Frage untersuchen, auf welche Weise eine derartige Niederschlagsmembran um den Zellsaft entstanden sein kann, ich möchte jedoch darauf hinweisen, dass in den meisten nicht zu inhaltsarmen Zellen im Zellsafte Stoffe gelöst sind, die leicht ausfällbar sind. Pfeffer hat zahlreiche Angaben hierüber gemacht, wie durch Farbstoffe oder durch Eindringen von alkalischen Lösungen Niederschläge entstehen, ohne dass er jedoch die Substanzen erschöpft hätte, welche solche Ausfällungen hervorrufen können. Ich selbst möchte noch darauf hinweisen, dass beim Zerzupfen von Zellen in Hühnereiweiss sich einzelne Tropfen des Zellsaftes isoliren lassen, welche sich dann mit einer sehr dünnen Membran umgeben, wodurch die Mischung von Zellsaft und Eiweiss verhindert wird, oder wenn der Zellsaft ursprünglich Farbstoff gelöst enthielt, ein Herausdiffundiren des Farbstoffs aus dem Zellsafttropfen hintangehalten wird. Es ist sehr leicht möglich, dass beim langsamen Absterben der Zellen aus dem Cytoplasma, bei welchem Alkalien herausdiffundiren, so dass rother Zellsaft blau gefärbt wird (vgl. pag. 14, 20 und 36), die Niederschlagsmembran erst entsteht. So lange wir jedoch über die Natur der im Zellsaft gelösten und leicht ausfällbaren Stoffe nicht näher unterrichtet sind, wird sich die Frage, wie solche Niederschlagsmembranen um den Zellsaft entstehen, nicht lösen lassen, die Thatsache, dass jeder einzelne Zellsafttropfen mit einer Membran umgeben wird, genügt, um die Vacuolenwand als Niederschlagsmembranen zu kennzeichnen.

Für die lebende Zelle genügt die Membranbildung durch das Plastin, welche Erklärung mit den gegebenen Thatsachen der Plasmabewegung etc. besser übereinstimmt, als wenn wir eine eigene Vacuolenwand annehmen, wie sie De Vries angibt. Nach meiner Ansicht wird also die Begrenzung des Cytoplasmas auf dieselbe Weise nach Innen, d. h. an der dem Zellsaft zugewendeten Seite bewirkt, als nach aussen. Die Differenzen, welche De Vries zwischen äusserer und innerer Grenzschicht gefunden (die

---

[1]) H. De Vries, Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolen in Pringsheims Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XVI, 1885. p. 465 ff.

grössere Widerstandsfähigkeit beim Absterben), beziehen sich also auf den Unterschied zwischen einer schon im lebenden Zustande gegebenen Plasmamembran und einer künstlichen Niederschlagsmembran um den Zellsaft.

Insofern sich meine Untersuchungen vielfach auf das Verhalten des Cytoplasmas verletzter Zellen beziehen, kommt noch die Frage in Betracht, ob wir berechtigt sind, die hier gefundenen Eigenschaften des Plastins auf das Plastin der lebenden Zelle zu übertragen. Ich glaube diese Frage mit ja beantworten zu sollen, indem es sich hier um Entmischungsvorgänge und um die Untersuchung der hierdurch getrennten Stoffe handelt. Es liegt schon im Begriffe der Entmischung, dass sich nur die Art und Weise der Zusammenlagerung ändert, die Beschaffenheit der die ursprüngliche Mischung zusammensetzenden Stoffe jedoch nicht ändert.

Wodurch nun die Entmischung veranlasst wird, ist wieder eine andere Frage, die wir jedoch vorläufig nicht zu beantworten vermögen. Sie findet statt bei stärkerem Druck, beim Anschneiden der Zellen, beim Tod durch Erfrieren, aber auch bei der Einwirkung von Giften, wie z. B. Anilinfarben in starker Verdünnung und verschiedenen Alkaloiden und trotz dieser Mannigfaltigkeit der einwirkenden Agentien bleibt die Erscheinung dieselbe. Man könnte wohl glauben, dass nur die Grenzschichten des Plasmas eine Veränderung erfahren würden, dass sie permeabler für Wasser würden, dagegen spricht jedoch, dass Entmischung schon eingetreten sein kann, ohne dass die Plasmamembran ihre osmotischen Eigenschaften verloren hätte. So bleibt eine Zelle, die man in einer sehr verdünnten Lösung von Methylviolett (0,0002 %) einige Minuten liegen liess, noch vollständig plasmolysirbar und ausdehnungsfähig, ja auch Plasmabewegung ist noch zu beobachten und trotzdem war das Cytoplasma vacuolig geworden, war die Entmischung schon eingetreten. Diese Annahme genügt also nicht.

Die Entmischung tritt auch ein in Zucker und Kochsalzlösungen, welche wesentlich höher concentrirt sind als zur Plasmolyse der Zellen erforderlich ist, es kann sich demnach auch nicht um eine einfache osmotische Wirkung der im Protoplasma gelösten Stoffe handeln. So wären noch verschiedene Möglichkeiten namhaft zu machen, von denen uns jedoch keine befriedigt. Wir müssen daher die aufgeworfene Frage noch unentschieden lassen und uns mit dem Wahrscheinlichkeitsschlusse zufrieden stellen, dass bei dieser Entmischung keine chemische Umwandlung der Componenten dieser Mischung eintritt.

In siedendem Wasser coagulirt das Cytoplasma sofort, es schrumpft dabei sehr beträchtlich und erhält eine mehr oder weniger deutliche Fällungsstruktur. Selbst nach längerem Verweilen in kochendem Wasser treten keine weiteren Umwandlungen ein, das Cytoplastin bleibt unlöslich und ebenso sind an den einmal coagulirten Cytoplasmamassen keine weiteren Aenderungen, wie Vacuolenbildung etc. zu beobachten. Ob ein Austritt von löslichen Substanzen stattfand, war nicht zu entscheiden, da Coagulation allein die Ursache der Volumverminderung sein konnte.

Die in diesem Paragraphen niedergelegten Resultate sind folgende:

Das Cytoplasma quillt in sehr jungen Pfanzentheilen am stärksten, es wird zu einer gleichmässig homogenen oder feinpunktirten Masse.

In älteren Zellen tritt Vacuolenbildung ein, indem sich das Cytoplastin von den löslichen Substanzen sondert.

In sehr alten Pflanzentheilen und bei stärkerem Gerbstoffgehalt der Zellen kann die Quellung und Vacuolenbildung vollständig unterbleiben.

Ausser dem Cytoplastin ist kein Eiweisskörper nachzuweisen (mit Ausnahme der jüngsten Zellen).

Das Cytoplastin liefert das Material zur Bildung der Plasmamembran, d. h. zur Begrenzung des Cytoplasmas nach Aussen und Innen.

Eine chemisch differente Grenzmembran ist nicht nachzuweisen. Das Cytoplastin wird durch heisses Wasser coagulirt, ist demnach unlöslich.

§ 31. Einwirkung von Neutralsalzen verschiedener Concentration auf das Cytoplasma.

Wir haben bei der Einwirkung von Kochsalz, wie bei den übrigen Reactionen zwischen dem Verhalten des Cytoplasmas in unverletzten und verletzten Zellen zu unterscheiden.

Die Contraction lebender Zellen in concentrirteren Lösungen von Kochsalz und anderen Neutralsalzen ist zu allbekannt, als dass ich hierauf noch eingehen müsste. Wir können daraus den Schluss ziehen, dass die Plasmamembran in Neutralsalzen unlöslich ist; dasselbe gilt nun auch von dem übrigen Cytoplastin.

Sobald wir angeschnittene Zellen in 10procentige Kochsalzlösung legen, entsteht ein Niederschlag, der je nach dem, ob das Cytoplasma schon viel oder wenig Wasser aufgenommen hat, feinkörniger oder mehr fibrillär erscheint, entsprechend der Niederschlagsbildung in verdünnteren oder mehr zähflüssigen Substanzen (vgl. § 28).

Die Unlöslichkeit des Plastins macht sich ferner noch in langsam absterbenden Zellen geltend. Lassen wir unverletzte Zellen längere Zeit in einer 10procentigen Kochsalzlösung liegen, so sterben sie ab, es treten dieselben Entmischungsvorgänge ein, wie bei der Wasserwirkung, die Vacuolenbildung wird oft sehr deutlich. Nach längerem Liegen diffundirt etwas Kochsalz in das Cytoplasma, auch wenn die Plasmamembran nicht verletzt ist; durch dieses Kochsalz tritt an dem vacuolig gewordenen Cytoplasma Schrumpfung der Plastintheilchen ein, wodurch unter gleichzeitigem Zusammenfliessen der Vacuolen ein Bild entsteht, das in uns die Vorstellung erweckt, das Cytoplasma bestände aus einem Gerüst, das von einer Flüssigkeit um-

spült wäre. Einen derartigen speciellen Fall habe ich auf Taf. VIII, Fig. 187 abgebildet. Die abgezogene Epidermis junger Blätter vom Braunkohl liess ich 24 Stunden in 10 % Kochsalz liegen, die Zellen waren contrahirt und allmählig trat Vacuolenbildung in der hier dargestellten Art und Weise ein. Bemerkenswerth ist dabei, dass die innere Grenzschicht des Plasmas zerstört war und so der gefärbte Zellsaft sich mit der Vacuolenflüssigkeit mischte. Ferner sehen wir, dass das Cytoplastin sich nicht gefärbt hat, es war also noch nicht die Veränderung in demselben vorgegangen, welche das todte Protoplasma tingirbar macht. Die äusserste Schicht des Cytoplasmas war noch unverletzt, wodurch das Auftreten des Farbstoffes hintangehalten wurde. Es handelt sich hier um einen seltener eintretenden Fall, indem für gewöhnlich die innere Grenzschicht des Cytoplasmas ebenfalls erhalten bleibt, und so der Uebertritt des Farbstoffs unterbleibt. Es war mir interessant zu sehen, dass der Farbstoff auch bei dem schon entmischten Cytoplasma nur von der Vacuolenflüssigkeit, nicht aber von dem Plastin aufgenommen wird. Wir sind deshalb wohl zur Annahme berechtigt, dass sich an der ganzen Oberfläche des Plastins ein Coagulationshäutchen gebildet hat.

Bleiben derartige Zellen länger in der Kochsalzlösung liegen, so tritt schliesslich Coagulation des ganzen Cytoplastins ein, zugleich wird die äusserste Grenzschicht gesprengt, der Farbstoff tritt aus oder tingirt die unlöslich gewordene Plastinmasse.

Die Entmischung des Cytoplasmas geht in der Kochsalzlösung bedeutend langsamer vor sich, als in Wasser. Wir finden daher bei beginnender Entmischung nur kleine Vacuolen im Cytoplasma, die sich erst allmählich ausdehnen. Ein derartiges Bild gibt uns Taf. VIII, Fig. 188 wieder. Es sind ebenfalls Epidermiszellen von Braunkohlblättern, welche circa 15 bis 20 Stunden in einer 10procentigen Kochsalzlösung gelegen hatten. Im Zellsaft sind grosse Kugeln ausgefällt, die Farbstoff angezogen haben. Ausserdem haben sich im Cytoplasma kleine Vacuolen gebildet, die ebenfalls Farbstoff aufnehmen. Da zu gleicher Zeit alkalische Stoffe aus dem Cytoplasma in diese kleinen Vacuolen übergetreten sind, wird der Farbstoff blau, während er in mehr saurem Zellsaft rothviolett erscheint. Derartige Zellen können bei längerem Verweilen in der Kochsalzlösung in das Fig. 187 dargestellte Stadium übergehen.

Die 10procentige Kochsalzlösung wirkt langsam desorganisirend. Das macht sich nicht nur bei isolirten Zellschichten geltend, sondern auch bei ganzen Pflanzen. Etwas Derartiges hat auf der 59. Naturforscherversammlung in Berlin G. Klebs mitgetheilt, welcher constatirte, dass Algenzellen wohl in concentrirten Zuckerlösungen, aber nicht in Kochsalzlösungen weiter zu leben vermögen. Ebenso konnte ich an *Elodea canadensis* constatiren, dass die Pflanzen zu Grunde gingen, wenn sie längere Zeit in 10% Kochsalz, oder in Kochsalz geringerer Concentration verweilten, was auch eintrat, wenn man die Pflanzen langsam an das concentrirtere Medium gewöhnte.

Man kann die schädliche Wirkung des Kochsalzes höherer Concentrationen aber auch sogleich nach der Einwirkung beobachten. In *Spirogyra*zellen mit jenen feinfädigen Strukturen, wie ich sie auf Taf. V, Fig. 152 abgebildet habe, werden bei der Behandlung mit 10procentiger Kochsalzlösung die Fibrillen sehr bald eingezogen, sie ballen sich zusammen (Taf. V, Fig. 154), bilden kleine Klümpchen, die sich meistens an die Chromatophoren anlehnen und nach einiger Zeit vacuolig werden.

Die analogen Erscheinungen, wie in Kochsalz, treten bei der Behandlung der Zellen mit 10 procentiger Lösung von schwefelsaurer Magnesia auf. Ich brauche daher nicht noch besonders hierauf einzugehen. Ich will jedoch als Ergänzung des oben Gesagten auf Fig. 186, Taf. VIII hinweisen, welche uns eine Zelle aus der Blüthe von *Hyacinthus orientalis* vorführt, bei welcher nach der Entmischung im Cytoplasma, sowohl inneren als äusseren Plasmamembran erhalten bleiben, wobei also der Farbstoff des Zellsaftes nicht in die Vacuolen des Cytoplasmas übertritt.

Das Resultat längerer Einwirkung der schwefelsauren Magnesia ist ebenso wie bei 10% Kochsalz, dass vom Cytoplasma das Cytoplastin als coagulirte Masse zurückbleibt.

Das Verhalten des Cytoplasmas gegen 20 proc. Kochsalzlösung oder gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia und schwefelsaurem Ammoniak bietet keine wesentlichen Unterschiede. Unverletzte Zellen werden sofort plasmolysirt, während in verletzten Zellen das Cytoplastin feinkörnig niedergeschlagen wird. In den unverletzten Zellen erfolgt, wenn auch ungleich schnell, nach einiger Zeit vollständige Coagulation des ganzen Cytoplasmas. In 20proc. Kochsalzlösung und in gesättigtem schwefelsauren Ammoniak erfolgt die Erstarrung etwas langsamer, circa in 20 bis 40 Minuten, während in der bei 40° C. gesättigten Lösung von schwefelsaurer Magnesia die Fällung so schnell vor sich gehen kann, dass die Zellen nicht einmal contrahiren oder doch nur in sehr geringem Grade. Das Cytoplasma zeigt wie in anderen Fixirungsflüssigkeiten ein feinkörniges bis fibrilläres Aussehen. Da die vollständige Coagulation meistens erst nach einiger Zeit eintritt, kann sich nach kurzer Einwirkung der genannten Reagentien bei Zusatz von Wasser das Cytoplasma wieder ausdehnen, bei längerer Berührung ist dies nicht mehr der Fall. Die Vacuolenbildung ist fast vollständig unterdrückt, nur an gefärbten Zellen kann man auch ähnliche Bilder sehen, wie sie uns Fig. 188, Taf. VIII wiedergibt, es handelt sich dann um kleine Vacuolen, die in dem langsam erstarrenden Cytoplasma auftreten.

Bemerkenswerth ist noch, dass in der gesättigten Lösung von schwefelsaurer Magnesia auch dann, wenn das Cytoplasma nicht mehr ausdehnungsfähig war, die osmotischen Eigenschaften der Plasmamembran erhalten blieben, und in Folge dessen der Farbstoff nicht aus dem Zellsaft herausdiffundirte.

Die hier mitgetheilten Reactionen beziehen sich auf folgende Objecte, die auch im Folgenden zur Untersuchung verwendet wurden: Die Epicotyle

von *Vicia faba, Vicia sativa* und *Pisum sativum,* das Hypocotyl von *Lupinus luteus,* die Blumenblätter von *Hyacinthus orientalis* und die Blätter von *Brassica oleracea* var. *crispa.*

Die in Bezug auf das Cytoplastin festgestellten Thatsachen sind folgende:

Das Cytoplastin ist unlöslich in 10% Kochsalz und 10% schwefelsaurer Magnesia, in welchen Lösungen es jedoch nur sehr langsam coagulirt, wenn die Zellen unverletzt sind. Schnell erfolgt die Fällung bei verletzten Zellen.

In 20% Kochsalz, sowie in den gesättigten Lösungen von schwefelsaurer Magnesia und schwefelsaurem Ammoniak erfolgt die Fällung und Coagulation binnen kurzer Zeit.

§ 32. Einwirkung von phosphorsauren Alkalien, Kalkwasser und freiem Alkali auf das Cytoplasma.

Verhalten gegen KH_2PO_4.

Wir haben im zweiten Kapitel gesehen, dass sich die Substanz der Chlorophyllkörper ziemlich indifferent gegen Monokaliumphosphat verhält. Dasselbe gilt von dem Cytoplasma. Unverletzte Zellen bleiben in einer 1 procentigen Lösung so lange unverändert erhalten, als dies bei Zellen, die aus ihrem Gewebeverbande gerissen sind, überhaupt möglich ist. Erst nach 2—3 Tagen wurden sie desorganisirt, das hätte aber auch in jeder anderen indifferenten Flüssigkeit stattgefunden. In verletzten Zellen fand Quellung des Cytoplasmas statt, das sich jedoch nicht löst, sondern in einen feinkörnigen Niederschlag verwandelt wurde.

Auch in höher concentrirten Lösungen, 5% und 20%, werden die unverletzten Zellen in normaler Weise plasmolysirt, ohne dass die Protoplaste ihre Ausdehnungsfähigkeit sobald verlieren würden. In verletzten Zellen wird das Cytoplastin niedergeschlagen, die Form dieses Niederschlags richtet sich nach der Concentration und Quellungsfähigkeit des Cytoplasmas. Die Fällung geschieht nicht momentan, das Cytoplastin quillt vielmehr noch etwas auf, wird dann jedoch niedergeschlagen. Die Bildung von Vacuolen habe ich nicht beobachtet. Wir können also sagen, das Cytoplastin ist in KH_2PO_4 unlöslich, aber etwas quellbar, nach einiger Zeit wird es gefällt.

Verhalten gegen Na_2HPO_4.

Dinatriumphosphat erhöht die Quellbarkeit des Cytoplasmas sehr bedeutend. Diese Wirkung macht sich jedoch erst bei höheren Concentrationen geltend. Bringt man unverletzte Zellen in eine 1 procentige Lösung, so bleiben dieselben unverändert. Die Plasmamembran ist also, wenn wenig Na_2HPO_4 einwirkt, unlöslich. Dies ist besonders aus dem Grunde bemerkenswerth, weil hierdurch bewiesen ist, dass auch bei dem Vorhandensein alkalischer Stoffe die Existenz und die Bildung der Plasmamembran möglich ist.

Bei längerem Liegen (circa 20 Stunden) wird etwas Dinatriumphosphat in die unverletzten Zellen aufgenommen, was man an der Blaufärbung des rothen oder rothvioletten Zellsaftes erkennt (Hyacinthe, rothe Zellen von *Vicia sativa,* Epidermis der Blattunterseite von *Calathea sp.*), ohne dass hierdurch die Plasmolysirbarkeit der Zellen aufgehoben würde. Bei längerem Verweilen (48 Stunden) nimmt jedoch die Quellung des Cytoplasmas zu, es wird in eine sehr feinkörnige durchsichtige Gallerte verwandelt und nur die Grenzschicht um den Zellsaft erhält sich noch länger.

Aus dem Erhaltenbleiben einer solchen Grenzschicht darf man jedoch noch nicht auf das Vorhandensein in der lebenden Zelle schliessen, indem erst durch die Berührung des Zellsaftes mit dem Dinatriumphosphat eine analoge Niederschlagsmembran gebildet sein konnte (vgl. pag. 168).

In den verletzten Zellen ist die Quellbarkeit des Cytoplasmas etwas gesteigert und ich halte es nicht für unmöglich, dass theilweise sogar Lösung erfolgt, so bei *Vicia faba, Lupinus luteus* und *Vicia sativa,* in den übrigen Fällen wurde das Cytoplasma in eine sehr durchsichtige, feinpunktirte Gallerte umgewandelt.

In 5 % Na_2HPO_4 tritt bei unverletzten Zellen für kurze Zeit Plasmolyse ein, die jedoch nicht lange anhält, indem das Cytoplasma stark aufquillt. Anfangs ist es noch feinkörnig, bald darauf wird es homogen, so dass man wohl auf Lösung des Cytoplastins schliessen darf. Sind wie z. B. bei der Hyacinthe im Cytoplasma kleine Körnchen vorhanden, so zeigen dieselben Brown'sche Körnchenbewegung, was ebenfalls auf Lösung hinweist. Die Niederschlagsmembran um den Zellsaft bleibt häufig erhalten, der Zellsaft selbst zerfällt meist in einzelne Kugeln, die sich dann wiederum mit einer Niederschlagsmembran umgeben.

Da die Zellen in kurzer Zeit getödtet werden, macht sich zwischen verletzten und unverletzten Zellen kein Unterschied geltend.

Die 20 procentige Lösung von Dinatriumphosphat wirkt wie die 5 procentige, nur tritt hier keine Lösung ein, das Cytoplasma wird vielmehr in einen sehr durchsichtigen und feinkörnigen, voluminösen Niederschlag verwandelt. Es ist dies nichts auffallendes, indem sehr viele Proteinkörper von verdünnteren Salzlösungen und freien Alkalien aufgenommen werden, während hochconcentrirte Lösungen sie fällen.

Verhalten gegen Kalkwasser.

Kalkwasser tödtet die Zellen sogleich und verwandelt das Cytoplasma in einen feinkörnigen, voluminösen Niederschlag, ohne dass sich Vacuolen oder fibrilläre Fällungen bilden würden. Die Plasmamembran wird ebenfalls sofort zerstört, so dass also kein Unterschied zwischen verletzten und unverletzten Zellen besteht. Da das Cytoplastin sich niemals löst, jedoch sein Volumen unter dem Einfluss des Kalkwassers stark vergrössert, müssen wir dasselbe als quellbar in Kalkwasser bezeichnen.

Verwenden wir eine Auflösung von Zucker in Kalkwasser, so erfolgt,

gemäss der schädlichen Einwirkung dieses Reagenz, keine Plasmolyse. Eine Niederschlagsmembran aus dem Zellsaft entstand nicht, ebenso trat keine Ausfällung von Kugeln etc. in dem Zellsaft ein.

Verhalten gegen Kalilauge.

Kalilauge tödtet die Zellen auch schon bei grösserer Verdünnung. Ein Theil concentrirte Kalilauge auf 1000 Theile Wasser, der Kürze halber bezeichne ich dies als die 0,1 procentige Kalilauge, genügt, um das Cytoplasma zum Aufquellen zu bringen, ohne dass sich hierbei jedoch Vacuolen bilden. Theilweise löst sich das Cytoplastin schon bei dieser Concentration *(Vicia faba* und *Vicia sativa*), wo dies nicht geschieht, quillt es zu einer ganz durchsichtigen Gallerte auf. (*Lupinus, Pisum, Hyacinthus, Brassica.*) Die Plasmamembran bleibt also auch in so verdünnter Lösung nicht erhalten, was die Anwesenheit von freiem Alkali in dem lebenden Cytoplasma ausschliesst.

Bei geringer Steigerung des Kaligehaltes, in 1 procentiger Lösung, erfolgt in sehr vielen Fällen vollständige Lösung des Cytoplastins mit vorangehendem Aufquellen. Man kann jedoch auch häufig beobachten, dass das Cytoplastin nur sehr stark aufquillt, es wird in eine vollständig durchsichtige Gallerte verwandelt, die auf Zusatz von Essigsäure gefällt wird und stark schrumpft. Die Lösung des Cytoplastins unterbleibt namentlich in alten Zellen, z. B. in Holzgefässen mit dünnem Plasmabelag, alten Markparenchymzellen, ferner aber noch bei bedeutendem Gerbstoffgehalt der Zellen (Knospen von *Aesculus hippocastanum,* Blättern von *Quercus.* Geringerer Gerbstoffgehalt z. B. bei *Lupinus* verhindert die Lösung nicht.

Concentrirte Kalilauge löst das Cytoplastin nicht auf, wenn es auch die Organisation des Cytoplasmas zerstört. Ich beobachtete sogar Zellen, welche in normaler Weise plasmolysirt waren *(Pisum, Lupinus).* Lange hält dieser plasmolysirte Zustand jedoch nicht an, das Cytoplasma quillt, wenn auch bedeutend weniger, als in verdünnter Kalilauge. Es kann hier auch Vacuolenbildung eintreten, so dass wir Bilder wie Fig. 174, Taf. VII erhalten. Nach einiger Zeit wird die Vacuolenwandung aber auch in diesem Falle undeutlicher, so dass wir schliesslich eine feinpunktirte Gallerte erhalten. Lösung tritt selten ein und auch nur in unverletzten Zellen.

Ich glaube, dass durch die concentrirte Kalilauge eine Zersetzung des Cytoplastins eintritt, bei welcher entweder wie bei der concentrirten Lauge eine Gallerte von Kalialbuminat oder wie bei wenig concentrirter Lauge lösliches Kalialbuminat gebildet wird. Derlei Modificationen sind bei der Umwandlung der Proteinstoffe durch Kalilauge längst bekannt. Für die Zersetzung des Plastins spricht auch die Angabe von Löw, dass nach Behandlung mit Kalilauge das Cytoplasma die Biuretreaction zeigt, während dies vorher nicht der Fall ist. Auch andere Reactionen, wie Fällbarkeit durch Säuren, die Nichtcoagulirbarkeit beim Erwärmen stimmen mit der Auffassung überein, dass das Plastin in eine dem Alkalialbuminat ähnliche Verbindung umgewandelt wird.

Wir können also resumiren:

In KH_2PO_4 wird das Cytoplastin gefällt, doch bleibt es noch längere Zeit quellungsfähig.

In Na_2HPO_4 höherer Concentration wird es gelöst, eine sehr geringe Menge dieses Salzes wirkt wie Wasser. In gesättigter Lösung quillt das Cytoplastin auf.

Kalkwasser bringt Cytoplastin zum Quellen, löst es aber nicht.

Verdünnte Kalilauge löst das Cytoplastin oder bringt sehr starkes Aufquellen hervor.

Concentrirte Lauge verwandelt es zumeist in eine Gallerte, sehr wahrscheinlich unter Umwandlung in eine dem Alkalialbuminat ähnliche Verbindung.

§ 33. Einwirkung von freien Säuren auf das Cytoplasma.

Wenn ich im Folgenden auch nur das Verhalten des Cytoplasmas gegen Essigsäure und Salzsäure näher besprochen habe, so möchte ich doch nicht unerwähnt lassen, dass das Cytoplastin in fast allen Säuren, namentlich den Mineralsäuren unlöslich ist und sich zu gleicher Zeit durch grosse Widerstandsfähigkeit gegen dieselben auszeichnet. Durch einigermaassen concentrirte organische Säuren, wie Ameisensäure, Citronensäure und Picrinsäure wird es leicht fixirt. Seine Unlöslichkeit erstreckt sich aber auch auf concentrirte Mineralsäuren, wie Salpetersäure, Chromsäure, Osmiumsäure und Schwefelsäure. Die letztere wird bekanntlich benutzt, um den Zusammenhang der einzelnen Protoplaste verschiedener Zellen nachzuweisen, und dies ist nur möglich, indem sich das Cytoplastin als unlöslich in dieser Säure erweist. Mir sind aber auch Fälle vorgekommen, in welchen das Cytoplasma selbst in Schulze'scher Macerationsflüssigkeit erhalten blieb. Es gilt dies besonders von coagulirtem Cytoplasma und dem in älteren Bast- und Parenchymzellen vorhandenen Resten. Da es mir hier nur um die Charakterisirung und den Vergleich der einzelnen im Zellinhalt vorkommenden Proteinstoffe zu thun ist, will ich auf diese Verhältnisse nicht näher eingehen. Ich wende mich daher zu den schon früher angewendeten Säuren.

Verhalten gegen Essigsäure.

Im Wesentlichen verhält sich das Cytoplasma gegen Essigsäure wie die fibrilläre Substanz der Chlorophyllkörper. Schon sehr verdünnte Essigsäure (0,2%) wirkt fixirend, das Cytoplastin wird jedoch nicht sofort unlöslich in Wasser, wodurch bedingt ist, dass feinere Struktureigenthümlichkeiten sehr häufig verwischt werden. Legt man z. B. Blätter von *Mnium undulatum*, welche die auf Taf. V, Fig. 153 wiedergegebenen Cytoplasmafäden zeigen, in eine derartig verdünnte Essigsäure, so laufen nach circa 20 Minuten die Körnchen der Fäden zu grösseren Kugeln zusammen, dann werden die Fäden selbst zerstört und ballen sich in der Mitte der Zellen haufenförmig

zusammen. Dieselben Umwandlungen finden in 1procentiger Essigsäure statt. In compakteren Cytoplasmakörpern treten jene Fällungsformen, Körnchen oder Fibrillen auf, welche der Consistenz des Cytoplasmas entsprechen. Die Niederschläge sind jedoch nicht so deutlich, erscheinen weniger undurchsichtig und compact als bei der Fixirung mit Alkohol oder Flemming'scher Mischung. Ist Farbstoff im Zellsaft vorhanden, so diffundirt derselbe nach $^1/_4$ — $^1/_2$ stündigem Liegen heraus, zu gleicher Zeit wird das Cytoplasma tinktionsfähig.

Diesem schädigenden Einfluss selbst so verdünnter Säure entspricht die Erfahrung, dass Pflanzen in Wasserculturen, welche auch nur eine sehr geringe Menge freier Säure enthalten, nicht gedeihen. Ausnahmen hiervon kommen vor und zwar scheinen nicht alle Säuren gleich schädlich zu wirken, manche Pflanzen besonders wenig empfindlich zu sein. So gedeiht z. B. *Penicillium* noch sehr gut in einer Nährlösung, welche selbst $^1/_2$% Phosphorsäure enthält.

In angeschnittenen Zellen erzeugt die 0,2 procentige Essigsäure einen feinkörnigen Niederschlag, aber keine Fibrillen, was dadurch zu erklären ist, dass während des Uebertragens das Cytoplasma durch die Aufnahme von Zellsaft etwas quillt, also verdünnter wird; in derartig verdünnten Lösungen erzeugen Fällungsmittel immer nur feine Niederschläge.

Vacuolenbildung konnte ich weder an verletzten noch an unverletzten Zellen beobachten. Es ist dies wesentlich, da wir bei den Chlorophyllkörpern vermöge ihrer Zusammensetzung aus zwei verschiedenen Proteinstoffen häufig die Trennung von Fibrillen und Zwischensubstanz beobachten konnten, welche schliesslich zur Vacuolenbildung führte. Das Cytoplasma dagegen lässt eine derartige Zusammensetzung nicht erkennen. Vacuolen zeigen sich nur dann im Cytoplasma, wenn wir zuerst einige Minuten die Schnitte in Wasser und dann erst in verdünnte Essigsäure legen, in welchem Falle das Cytoplastin unlöslich wird.

Die 1procentige Essigsäure wirkt wie die von 0,2%, nur dass die Fixirung etwas schneller vor sich geht. Dasselbe gilt auch noch von der 3procentigen Lösung, nur ist die Fixirung hier etwas unvollständiger, indem das Cytoplastin schon etwas quellbar ist.

Concentrirte Essigsäure, Eisessig und 50%, verwandeln das Cytoplasma in eine sehr feinkörnige, durchsichtige Gallerte unter gleichzeitiger Volumvergrösserung. Das Aufquellen erfolgt bald nach dem Zutritt der Essigsäure, Vacuolenbildung findet niemals statt. Das Cytoplastin quillt selbst so stark, dass keine Entmischung stattfindet. Die Quellung ist jedoch immer eine beschränkte, bei der niemals Lösung erfolgt. Ein Unterschied zwischen verletzten und unverletzten Zellen ist nicht zu beobachten.

Verhalten gegen Salzsäure.

Eine Lösung, die 0,01% concentrirte Salzsäure enthält, wirkt ganz wie Wasser.

Die 0,1 procentige Salzsäure tödtet die Zellen, ohne das Cytoplasma jedoch immer gut zu fixiren. Das Letztere geschieht, wenn im Zellsaft Gerbstoff vorhanden ist, der zur Wirkung auf das Plastin gelangt, sobald das Cytoplasma durch die Tödtung mit Salzsäure durchlässiger gemacht worden ist. Fehlt Gerbstoff, so quillt das Cytoplasma unverletzter Zellen etwas auf, ohne sich jedoch zu lösen. In verletzten Zellen entsteht ein sehr feinkörniger, voluminöser Niederschlag.

In 1 % Salzsäure findet meist nur geringe Quellung statt, das Cytoplasma kann sogar schrumpfen (*Lupinus, Vicia faba*), ohne dass jedoch hier eine fibrillär-körnige Fällung stattfinden würde. Eine bemerkenswerthe Erscheinung konnte ich bei *Vicia sativa* beobachten. Das Cytoplasma zeigte hier geringe Quellung, bei welcher jedoch die äussere Grenzschicht ein besonderes Verhalten aufwies. Dieselbe wurde wellig gebogen und zum Theil ragte sie in das übrige Cytoplasma hinein. Dieses Zusammenfalten der äusseren Grenzschicht in unverletzten Zellen muss auf einer besonderen Quellungsfähigkeit derselben beruhen. Das Zusammenfalten kommt nur in unverletzten Zellen zu Stande, indem durch die Zellwand die unbeschränkte Flächenausdehnung des quellenden Cytoplastins verhindert wird. Es wäre möglich, dass diese Erscheinung mit der Zellwandverdickung in Zusammenhang zu bringen wäre, indem die äussersten Schichten des Cytoplasmas schon eine chemische Veränderung erlitten hätten. Meine Erfahrungen sind jedoch zu gering, um eine derartige Anschauung positiv zu begründen.

In verletzten Zellen wird das Cytoplastin feinkörnig niedergeschlagen.

Im Gegensatz zu der unvollständigen Fällung durch verdünnte Salzsäure steht das Verhalten gegen 20procentige und hochconcentrirte Säure. In unverletzten Zellen schrumpft der ganze Cytoplasmasack. Das Cytoplastin quillt nicht, zeigt theilweise auch körnig-fibrilläre Fällungsstrukturen, die jedoch meistens nicht sehr deutlich hervortreten. In den verletzten Zellen wird das Plastin körnig niedergeschlagen, der Niederschlag ist nicht so voluminös als bei verdünnter Salzsäure. Vacuolenbildung fand nicht statt. Das Cytoplastin ist unlöslich in concentrirter Salzsäure.

Das Verhalten des Cytoplastins kurz zusammengefasst: Verdünnte Essigsäure fällt das Plastin, concentrirte bringt es zum Aufquellen, niemals zur Lösung.

In verdünnter Salzsäure ist es unlöslich, theilweise quillt es auf, in concentrirter Salzsäure wird es ohne Aufquellen gefällt.

§ 34. Einwirkung einzelner Metallverbindungen auf das Cytoplasma.

Ferrocyankalium in derselben Mischung mit Essigsäure, wie wir es auf die Zellkerne einwirken liessen, ist für das Cytoplasma direkt als Fixirungsflüssigkeit zu gebrauchen. Es entstehen an der unverletzten Zelle ganz dieselben Niederschläge, wie z. B. durch Flemming'sche Mischung

oder andere Fixirungsflüssigkeiten. Die fibrillenartigen Formen des Niederschlages sind sehr gut zu sehen. Diese künstlichen Fällungsstrukturen treten sogar sehr deutlich hervor (vgl. Taf. V, Fig. 161, Epidermiszelle einer Hyacinthenblüthe). Das Cytoplasma verändert sich beim Einlegen in Wasser nicht weiter.

Bis zu einem gewissen Grade bleibt auch die Beschaffenheit der Plasmamembran gewahrt, die Farbstoffe diffundiren nur langsam heraus, erst nach einer Viertelstunde entweichen sie aus der Zelle, unter vorausgehender Rothfärbung durch die Essigsäure.

In der verletzten Zelle entsteht ebenfalls ein Niederschlag, der feinkörnig punktirt ist, oder wenn durch vorhergehende Wasserwirkung Vacuolen gebildet waren, aus einer feinkörnigen Masse besteht, in welcher Flüssigkeit enthaltende Kreise eingebettet sind.

Die analogen Fällungserscheinungen erhalten wir, wenn wir die angegebene Lösung mit dem 3—4fachen Volumen Wasser vermischen.

Ueber die Färbung des mit angesäuerter Ferrocyankaliumlösung behandelten Cytoplasmas bei Zusatz von Eisensalzen habe ich mich schon früher (pag. 126) geäussert.

In hinreichend concentrirter Lösung von schwefelsaurem Kupfer werden, wie in concentrirten Neutralsalzlösungen die unverletzten Zellen plasmolysirt. Hat das schwefelsaure Kupfer nur sehr kurz eingewirkt, so sind die Zellen auch wieder in Wasser ausdehnbar. Enthielt der Zellsaft Farbstoff, so entweicht dieser nicht. Nach einigem Verweilen in dem schwefelsauren Kupfer hat das Cytoplasma seine Fähigkeit, sich in Wasser wieder auszudehnen, verloren, es wird bei Zusatz von Wasser einfach gesprengt, in welchem Falle auch der Farbstoff heraus diffundirt. Bei längerer Berührung mit schwefelsaurem Kupfer wird also das Cytoplastin gefällt. Dasselbe geschieht sofort, wenn wir verletzte Zellen untersuchen, es bildet sich hier ein mehr oder weniger feinkörniger Niederschlag.

Ferrum solubile bringt das Cytoplasma zum Quellen, ohne dass es jedoch lösend wirkt. Dabei bleibt die Niederschlagsmembran um den Zellsaft erhalten. Die letztere ist undurchlässig für Gerbstoff, welche Eigenschaft wir dazu benützen können, um uns von der Thatsache zu überzeugen, dass das Cytoplasma keinen Gerbstoff enthält, die Eisenlösung dringt in das Cytoplasma ein, färbt es aber nicht schwarz.

Ich beobachtete in einigen Fällen, dass bei etwas concentrirterer Eisenlösung im ersten Moment der Einwirkung Plasmolyse auftrat, bald jedoch wurde dieser plasmolysirte Zustand dadurch verändert, dass das Cytoplasma aufquoll.

Doppelchromsaures Kali verhält sich ungefähr wie schwefelsaures Kupfer. Auch hier tritt bei der nothwendigen Concentration Plasmolyse ein, nach kurzer Einwirkung sind die Zellen noch ausdehnbar, später wird jedoch das Cytoplastin gefällt. Die Niederschlagskörnchen und Fibrillen treten nicht immer sehr deutlich hervor. In verletzten Zellen wird das Plastin sogleich niedergeschlagen.

Aus dem Gesagten folgt:

Das Cytoplastin wird durch Ferrocyankalium mit Essigsäure sofort niedergeschlagen, langsamer erfolgt das Unlöslichwerden in schwefelsaurem Kupfer und doppelchromsaurem Kali, in Ferrum solubile ist das Cytoplastin quellbar.

§ 35. Einwirkung von Verdauungsfermenten auf das Cytoplasma.

Sowohl bei der Einwirkung von Pepsin als von Trypsin bleibt vom Cytoplasma ein unverdaubarer Rest zurück, der auch bei sehr langer Dauer der Verdauung sich nicht weiter verändert. Es ist vollständig gleichgültig, ob wir Alkoholmaterial oder frische Objecte der Verdauung unterwerfen. Die zurückbleibende Masse bildet einen kleinen geschrumpften Sack, der beträchtlich weniger Substanz darstellt, als das Cytoplasma der lebenden Zelle. Verursacht ist diese Volumverminderung aber nicht durch die Verdauung des Cytoplastins, sondern einerseits durch das Schrumpfen desselben, andererseits durch die Entfernung aller löslichen Stoffe.

Es bleibt nach der Verdauung ungefähr ein gleich grosser Rest zurück, als bei der Behandlung verletzter Zellen mit Wasser bei nachfolgender Behandlung mit Alkohol. Dasselbe Schrumpfen, das der Alkohol hervorruft, wird bei den Verdauungsversuchen durch den hier stattfindenden Coagulationsprocess bedingt, welcher sich sowohl in so schwach saurer als neutraler Lösung abspielt. Ich glaube also, dass man nicht berechtigt ist, aus der Abnahme des Volumens auf die Anwesenheit eines verdaubaren Proteinstoffes im Cytoplasma zu schliessen.

Der geschrumpfte Rest zeigt keinerlei deutliche Strukturen.

Verfolgt man die Verdauung an vorher in Wasser aufgequollenem Cytoplasma, das mit Alkohol fixirt wurde, so sieht man, dass die Vacuolenwand unverdaubar ist. Bei längerer Einwirkung collabiren die Vacuolen, weshalb man an den schliesslich zurückbleibenden Verdauungsresten dieselben nicht mehr zu finden vermag.

Lässt man eine vollständig neutrale Trypsinlösung auf unverletzte lebende Zellen wirken, so findet nach einiger Zeit Entmischung des Cytoplasmas statt, es können unter dem schädlichen Einflusse des Fermentes Vacuolen entstehen, die schliesslich verschwinden und den soeben beschriebenen strukturlosen Plastinsack zurücklassen. Zugleich geht daraus hervor, dass die Plasmamembran in dem Verdauungsferment ebenfalls desorganisirt wird und ihre osmotischen Eigenschaften verliert. Dies muss jedoch nicht durch die Lösung derselben bedingt sein, da auch bei der Desorganisation durch fällende Stoffe, z. B. durch 1procentige Essigsäure die osmotischen Eigenschaften in gleicher Weise verloren gehen. Folglich beweisen diese Verdauungsversuche nichts gegen unsere Annahme, dass die Plasmamembran aus unverdaubarem Plastin bestünde. Wurzeln höherer Pflanzen gehen in Folge dieser Zerstörung zu Grunde, wenn man sie in einer sonst indifferenten Flüssigkeit, die jedoch Trypsin enthält, cultiviren will.

Anders verhalten sich Bacterien, die ungestört in Verdauungsflüssigkeiten fortkommen. Dieselben sind vielleicht durch eine undurchlässige Membran vor der Einwirkung der Fermente geschützt. Es ist dies eine leicht begreifliche Erscheinung, da ja bei der Fäulniss direkt peptische Fermente ausgeschieden werden.

In Uebereinstimmung mit der Einwirkung der Fermente steht die Thatsache, dass auch bei der Fäulniss höherer Pflanzentheile in den Zellen ein unverdaubarer Plastinrest zurückbleibt, der eben von jenen Stoffen nicht angegriffen wird, welche Bacterien zur Lösung der Proteinstoffe ausscheiden.

Für die grosse Widerstandsfähigkeit des zurückbleibenden Cytoplastins sprechen auch die von E. Zacharias[1]) angegebenen Wirkungen einzelner Reagentien. Concentrirte Salzsäure oder Salpetersäure lassen es unverändert, in verdünnter Sodalösung und phosphorsaurem Natron tritt Quellung ein, aber keine Lösung, ebenso ist die Quellung in etwas concentrirterer Kochsalzlösung gering, in destillirtem Wasser bleiben die Verdauungsreste unverändert und nur verdünnte Kalilauge wirkt lösend. Wir sehen, es sind im Wesentlichen dieselben Reactionen, wie am unverdauten Plastin, nur dadurch modificirt, dass wir es hier mit einem Coagulationsproduct zu thun haben.

Kurz resumirt, das Cytoplastin widersteht sowohl der Pepsin-, als der Trypsinverdauung.

1) Botanische Zeitung 1881 p. 172 ff. Man findet hier auch genaue Angaben über die Pepsinverdauung.

Kapitel V.

Die Reactionen und Eigenschaften der Proteinstoffe.

Ich beabsichtige in diesem Kapitel die Eigenschaften der in den Pflanzen gefundenen Proteinkörper kurz zusammen zu fassen und einen Vergleich zwischen den einzelnen Stoffen anzustellen. Andererseits wollte ich die Frage erledigen, in wie weit sich die in der Pflanze gefundenen Stoffe in ihren Eigenschaften mit den von den Chemikern dargestellten Körpern decken. Zu diesem Zwecke habe ich, die von Hoppe-Seyler gegebene Classification der Proteinkörper im Wesentlichen acceptirend, die Reaction dieser Stoffe ausführlich wiedergegeben. Die meisten Reactionen habe ich selbst geprüft, ausserdem jedoch eingehend die in der Litteratur vorliegenden Angaben verwerthet. Ich glaubte mit dieser Zusammenstellung zur Klärung der Ansichten auf diesem Gebiete beitragen zu können, da wir speciell in der botanischen Litteratur keine derartige Zusammenfassung besitzen. Nach den bisherigen Erfahrungen erscheint es gerechtfertigt, die sich bei der Untersuchung der thierischen Proteinstoffe ergebende Classification direkt auf die pflanzlichen Proteinstoffe zu übertragen, da es sich hier um Gruppen verwandter, wenn auch nicht identischer Substanzen handelt.

§ 36. Eigenschaften und Vergleich der in den Pflanzen gefundenen Proteinstoffe[1]).

Zur leichteren Orientirung stelle ich in den folgenden Tabellen die Reactionen der Proteinkörper zusammen. Als „quellbar" sind die Stoffe bezeichnet, wenn sie ihr Volumen vergrössern, ohne sich zu lösen, als „unlöslich", wenn eine derartige Volumvergrösserung nicht eintritt, die Substanzen durch das Reagenz die Fähigkeit, bei Zutritt von Wasser aufzuquellen, erst nach längerer Zeit verlieren. In diese Kategorie sind also vorzüglich jene Stoffe zu stellen, welche die Proteinkörper in demselben Zustande lassen wie sie in der Planze vorkommen, ohne dass jedoch hierher nur indifferente Stoffe gehören. Der Ausdruck „gefällt" bezeichnet, dass die Stoffe sogleich oder doch binnen kurzer Zeit durch das Reagenz so verändert werden, dass ein Aufquellen in Wasser nicht mehr eintritt. Wir haben also in dem Verhalten der Proteinkörper gewissermaassen gradweise Differenzen zu registriren: löslich — quellend — unlöslich — gefällt. War das Verhalten eines Stoffes nicht genau zu präcisiren, so sind die Grenzen der Reaction durch zwei Ausdrücke wiedergegeben. Steht ein Ausdruck in Klammern neben einem anderen, so bedeutet dies, dass manchmal die in der Klammer angegebene Reaction, zumeist jedoch die andere, eintritt.

---

[1]) Ausser den angeführten Stoffen kommen in der Pflanze noch andere vor, die ich bisher jedoch nicht näher untersucht und daher an dieser Stelle nicht weiter berücksichtigt habe.



	Cytoplasma	Chlorophyllkörper	
	Cytoplastin	Chloroplastin (Fibrillensubstanz)	Metaxin (Zwischensubstanz)
Wasser	unlöslich—quellend später coagulirend	unlöslich—quellend später coagulirend	quellend — löslich
Kochsalz 10 %	unlöslich	unlöslich	quellend
— 20 %	unlöslich (später gefällt)	unlöslich (später gefällt)	unlöslich
Schwefelsaure Magnesia gesättigt	unlöslich	unlöslich	unlöslich
Schwefelsaures Ammon gesättigt	unlöslich	unlöslich	unlöslich
Monokaliumphosphat 1 %	unlöslich (wie Wasser)	unlöslich (quellend, wie Wasser)	quellend — löslich (wie Wasser)
— 5 %	unlöslich	unlöslich	wenig quellbar
— 20 %	unlöslich	unlöslich	unlöslich
Dinatriumphosphat 1 %	unlöslich (quellend)	quellend	stark quellend
— 5 %	stark quellend — löslich	unlöslich (wenig quellend)	quellend
— 20 %	quellend	unlöslich	unlöslich
Kalkwasser	quellend	quellend	quellend — löslich?
Kalilauge 0,1 %	löslich — stark quellend	stark quellend	stark quellend — löslich?
— 1 %	löslich — stark quellend	stark quellend	stark quellend — löslich?
— concentrirt	unlöslich (wenig quellend)	unlöslich — wenig quellend	unlöslich — wenig quellend
Essigsäure 0,2 %	gefällt	gefällt	quellend
— 1 %	gefällt	gefällt	quellend
— 3 %	unlöslich — wenig quellend	quellend	stark quellend
— 50 %	quellend } Umwandlung in eine Gallerte.	quellend } Umwandlung in eine Gallerte	quellend
— concentrirt	quellend	quellend	quellend
Salzsäure 0,1 %	unlöslich (theils quellend)	quellend	quellend oder löslich
— 1 %	unlöslich gefällt	stark quellend	stark quellend
— 20 % u. conc.	unlöslich (gefällt)	unlöslich gefällt	unlöslich (?)
Ferrocyankalium + Essigsäure	gefällt	gefällt	gefällt
Schwefelsaures Kupfer	unlöslich, dann gefällt	unlöslich gefällt	unlöslich gefällt
Doppelchromsaures Kali concentrirt	quellend	quellend	quellend
Ferrum solubile	quellend	quellend	quellend
Pepsinwirkung	nicht verdaubar	nicht verdaubar	verdaubar
Trypsinwirkung	nicht verdaubar	nicht verdaubar	verdaubar
Tingirbarkeit	gering	gering	gering

	Kern		
	Chromatin	**Linin** (Gerüstsubstanz)	**Paralinin** (Zwischensubstanz)
Wasser [1])	—	—	—
Kochsalz [2]) ..... 10 %	löslich	löslich	löslich
— .... 20 %	löslich	quellend	quellend
Schwefelsaure Magnesia .... gesättigt	löslich	unlöslich — wenig quellend	quellend (unlöslich?)
Schwefelsaures Ammon .... gesättigt	schwer löslich	unlöslich	unlöslich
Monokaliumphosphat .... 1 %	löslich	unlöslich	löslich (?)
— .... 5 %	löslich	unlöslich	quellend (löslich?)
— .... 20 %	schwer löslich	unlöslich (quellend)	quellend (?)
Dinatriumphosphat 1 %	löslich	quellend, dann löslich	quellend, dann löslich
— .... 5 %	löslich	löslich	löslich
— .... 20 %	löslich	quellend, dann löslich	quellend, dann löslich
Kalkwasser	löslich	langsam löslich	löslich
Kalilauge ...... 0,1 %	löslich	löslich [3])	löslich
— .... 1 %	löslich	löslich	löslich
— ..... concentrirt	löslich	löslich (quellend)	löslich
Essigsäure ..... 0,2 %	gefällt	gefällt	gefällt
— .... 1 %	gefällt	gefällt	gefällt
— .... 3 %	gefällt	gefällt	gefällt
— [4]) .... 50 %	unlöslich	quellend	quellend
— [4]) .... concentrirt	quellend, partiell unlöslich	quellend	quellend
Salzsäure ...... 0,1 %	unlöslich	unlöslich	unlöslich
— [5]) .... 1 %	unlöslich	unlöslich — quellend	unlöslich — quellend
— [6]) .. 20 % u. conc.	unlöslich	unlöslich	unlöslich
Ferrocyankalium + Essigsäure	löslich	unlöslich	unlöslich
Schwefelsaures Kupfer .... concentrirt	langsam löslich	unlöslich (gefällt)	unlöslich (gefällt)
Doppelchromsaures Kali .... concentrirt	unlöslich	stark quellend	stark quellend
Ferrum solubile	langsam löslich	quellend	quellend
Pepsinwirkung	nicht verdaubar	nicht verdaubar	verdaubar
Trypsinwirkung	sehr leicht verdaubar	verdaubar	verdaubar
Tingirbarkeit	intensiv	wenig	wenig.

	Kern		Anmerkung.
	Pyrenin (Nucleolus)	**Amphipyrenin** (Membran)	
Wasser[1])	—	—	[1]) Verhalten der verschied. Kerne ungleich.
Kochsalz .... 10 %	löslich	schwer löslich	[2]) Durch Wasser veränderte Kerne nicht vollständig löslich.
— .... 20 %	unlöslich (durchsichtig werdend)	unlöslich gefällt	
Schwefelsaure Magnesia........ gesättigt	unlöslich	unlöslich	
Schwefelsaures Ammon .... gesättigt	unlöslich	unlöslich	
Monokaliumphosphat .... 1 %	unlöslich	unlöslich	
— .... 5 %	unlöslich	unlöslich	
— .... 20 %	unlöslich	unlöslich	
Dinatriumphosphat 1 %	schwer löslich (löslich)	schwer löslich (löslich)	
— .... 5 %	löslich	löslich	
— .... 20 %	schwer löslich	schwer löslich	
Kalkwasser	quellend (partiell gelöst)	quellend — unlöslich	
Kalilauge ...... 0,1 %	schwer löslich	löslich	[3]) Manchmal schwer löslich.
— .... 1 %	löslich	löslich	
— ..... concentrirt	löslich	löslich	
Essigsäure ..... 0,2 %	gefällt	gefällt	
— .... 1 %	gefällt	gefällt	
— .... 3 %	quellend	quellend	
— .... 50 %	quellend	quellend	[4]) Die Substanzen werden zersetzt.
— ..... concentrirt	quellend	quellend	
Salzsäure ...... 0,1 %	unlöslich oder sehr wenig quellend	unlöslich	
— .... 1 %	quellend — löslich	quellend — löslich	[5]) Es tritt langsam Zersetzung ein.
— ... 20 % u. conc.	unlöslich	unlöslich	[6]) Bildung einer Gallerte wohl unter Zersetzung.
Ferrocyankalium + Essigsäure	gefällt	gefällt	
Schwefelsaures Kupfer .... concentrirt	unlöslich (gefällt)	unlöslich (gefällt)	
Doppelchromsaures Kali..... concentrirt	partiell löslich	unlöslich	
Ferrum solubile......	quellend	unlöslich	
Pepsinwirkung	nicht verdaubar (partiell gelöst)	nicht verdaubar	
Trypsinwirkung	theilw. schwer verdaubar	verdaubar	
Tingirbarkeit.........	intensiv	sehr wenig	

Die Proteinstoffe der Zelle unterscheiden sich nicht alle in demselben Maasse von einander. Wir haben vielmehr näherstehende und im höheren Grade verschiedene zu unterscheiden. Durch die Analogie der Namen habe ich den bestehenden Verwandtschaften Rechnung zu tragen gesucht und nur durch die Verbindung mit einem zweiten Namen die Verschiedenheiten ausgedrückt. So entspricht das Cytoplastin dem Chloroplastin, das Linin dem Paralinin, das Pyrenin dem Amphipyrenin. Chromatin und Metaxin stehen vereinzelt da.

Bei der weitgehenden Uebereinstimmung der gleichartigen Stoffe, wovon die Tabellen Zeugniss ablegen, wird es genügen die Unterschiede zwischen denselben hervorzuheben. Die Unterschiede sind zumeist nur quantitativ, indem bei dem einen Körper Lösung eintritt, wenn bei dem anderen Quellung stattfindet, oder indem ein Stoff statt aufzuquellen, unlöslich ist. Sehr selten erweist sich aber der eine Stoff als fällbar oder unlöslich, wenn der andere löslich ist.

Abgesehen davon, dass das Chloroplastin durch Chlorophyll grün gefärbt ist, unterscheidet sich dasselbe vom Cytoplastin zunächst durch seine geringere Löslichkeit in 5 % und 20 % Dinatriumphosphat. Das Chloroplastin ist unlöslich, zeigt auch nur ausnahmsweise geringe Quellung, während das Cytoplastin in der 5 procentigen Lösung stark aufquillt oder sich darin auflöst, während 20 % Na_2HPO_4 wenigstens Quellung hervorruft.

Verdünnte Kalilauge löst das Cytoplastin leichter, wenn das Chloroplastin auch sehr weitgehende Quellung zeigt.

Etwas prägnanter ist der Unterschied bei gewissen Concentrationen der Säuren, aber auch nur bei diesen Concentrationen, während sich sonst beide Stoffe gleich verhalten. In 3 procentiger Essigsäure ist das Cytoplastin weniger quellbar als das Chloroplastin. Deutlicher ist die Differenz in verdünnter Salzsäure, namentlich bei 1 %, wodurch das Cytoplastin gefällt wird, während das Chloroplastin stark aufquillt. Es ist dies vielleicht das beste Unterscheidungsmittel überhaupt.

Meinen Bedenken in Bezug auf die Unterscheidung von Linin und Paralinin habe ich schon im dritten Kapitel Ausdruck gegeben. Dieselben werden wesentlich durch die weitgehende Uebereinstimmung der Reactionen gestützt.

Ein Unterschied macht sich bestimmt geltend an einzelnen Kernen, z. B. von *Phajus* bei der Behandlung mit gesättigter schwefelsaurer Magnesia, worin das Paralinin stark aufquillt, während das Linin unlöslich ist. Derselbe Unterschied ist bei den übrigen Kernen, deren Bau nicht so leicht zu übersehen war, nicht mit derselben Sicherheit nachzuweisen.

In Monokaliumphosphat ist das Paralinin quellbarer resp. löslicher. Der wesentlichste Unterschied besteht jedoch in der Verdaubarkeit des Paralinins in Pepsinlösung, während das Linin nicht verdaut wird. Immerhin ist es nicht vollständig ausgeschlossen, dass es sich hier nur um eine Spaltung und partielle Verdaubarkeit des einen Spaltungsproductes des Linins handelt, in welchem Falle auch eine Abnahme der ganzen Masse eintreten

würde, ohne dass wir zwischen einem nicht verdaubaren Linin und einem verdaubaren Paralinin zu unterscheiden hätten. Ich lasse also diese Unterscheidung noch dahingestellt.

Auffallend und bisher vollständig übersehen ist die nahe stoffliche Verwandtschaft des Nucleolus und der Kernmembran, d. h. von Pyrenin und Amphipyrenin. Das Verhalten in Kochsalz und sehr verdünntem Kali ist fast gleich, dass die Lösung der einen Substanz etwas früher erfolgt, ist kein maassgebender Unterschied. Die Thatsache, dass der Nucleolus in Kalkwasser, in doppelchromsaurem Kali vacuolig wird, dass er bei der Pepsinverdauung sich theilweise löst, könnte als eine weitere stoffliche Zusammensetzung gedeutet werden, wie dies von Zacharias auch geschehen ist. Ich habe dagegen die Ansicht geltend gemacht, dass wir nur 2 Modificationen desselben Stoffes im Nucleolus vor uns haben, wobei in der Jugend die löslichere, später die unlösliche vorwiegt (vgl. § 18). Wie diese Frage auch zu entscheiden sein mag, jedenfalls besteht die Hauptmasse des Nucleolus aus einem Stoffe, der auch in den eben angeführten Reactionen mit der Membran übereinstimmt.

Der wesentlichste Unterschied zwischen Pyrenin und Amphipyrenin besteht in der Tingirbarkeit. Ich hatte noch kurz vor Abschluss des Manuscripts Gelegenheit, mich mit den neuesten von Zeiss verfertigten vorzüglichen Oelimmersionen von der Richtigkeit der bisherigen Angabe zu überzeugen, dass die Membran aus sog. achromatischer Substanz besteht. Ich beobachtete namentlich nach Gram'scher Methode gefärbte Kerne, die sehr reine Chromatin- und Pyrenintinctionen zeigten. Hie und da wäre bei weniger vorzüglichen Objectiven eine Täuschung dadurch möglich gewesen, dass an der Peripherie des Kernes sehr kleine Chromatinkörnchen lagen; mit Hülfe dieser neuen Linsen kann man sich jedoch mit Leichtigkeit überzeugen, dass das Amphipyrenin nicht tingirbar ist.

Wenn nun alle anderen Reactionen bis auf die Tinctionsfähigkeit übereinstimmen, so sind wir jedenfalls berechtigt, die sehr nahe Verwandtschaft, wenn nicht Identität beider Stoffe zu behaupten. Die Tinctionsfähigkeit kann durch nebensächliche Umstände wesentlich modificirt werden, da jedoch auch sonst noch, wenn auch ganz geringe Unterschiede bestehen, habe ich vorläufig die Stoffe des Nucleolus und der Kernmembran nicht mit ein und demselben Namen belegt.

Was nun die Zusammensetzung der einzelnen Formbestandtheile der Zelle aus verschiedenen Proteinstoffen anbelangt, so haben wir gesehen, dass im Cytoplasma nur ein Proteinstoff nachzuweisen war, während in den Chlorophyllkörpern zwei verschiedene Stoffe zu unterscheiden sind, das Chloroplastin und das Metaxin. Im Kern haben wir fünf differente Stoffe unterschieden, da sich jedoch je zwei derselben sehr nahe stehen, sind hier eigentlich nur drei Substanzen vorhanden, welche tiefer gehende Unterschiede bieten. Es sei mir gestattet die charakteristischen Differenzen innerhalb der einzelnen Zellorgane noch speciell hervorzuheben.

Das **Metaxin** zeichnet sich durch seine bedeutend grössere Löslichkeit vor dem Chloroplastin aus. In Wasser, 10 % Kochsalz, 1 % und 5 % Monokaliumphosphat, 5 % Dinatriumphosphat, 0,2 % und 1 % Essigsäure ist das Plastin unlöslich oder doch nur sehr wenig quellbar, während sich das Metaxin als stark quellbar oder löslich erweist. Ebenso zeigt das Metaxin in 1 % Dinatriumphosphat, (Kalkwasser?) und 3 % Essigsäure eine im Vergleich zum Cytoplastin gesteigerte Quellbarkeit.

Ein wesentlicher Unterschied der Beschaffenheit spricht sich auch darin aus, dass das Metaxin sowohl bei Pepsin- als bei Trypsinwirkung verdaut wird, während das Cytoplastin unverdaubar ist. Soweit meine diesbezüglichen Erfahrungen reichen, möchte ich die Vermuthung aussprechen, dass die in den Chlorophyllkörpern vorkommenden Proteinkrystalle dem Metaxin sehr nahe stehen, es bedarf dies jedoch noch weiterer Untersuchungen, die ich später nachzutragen gedenke.

Im Kern ist das **Chromatin** durch seine grosse Löslichkeit in Neutralsalzen, phosphorsauren Salzen jeder Concentration, Kalkwasser und Alkalien ausgezeichnet, während es Säuren gegenüber sich als besonders resistent erweist. Sehr gut aber ist es charakterisirt durch seine Löslichkeit in mit Essigsäure versetzter Ferrocyankaliumlösung und in concentrirtem schwefelsaurem Kupfer, welche Substanzen die übrigen Kernstoffe vollständig unlöslich machen. Weniger prägnant ist die Differenz im löslichen Eisen, welches das Chromatin aufnimmt, während es die übrigen Kernstoffe zum Quellen bringt.

Das **Pyrenin** erweist sich gegen hochconcentrirte Neutralsalzlösungen widerstandsfähiger, ist unlöslich in Monokaliumphosphat und schwerer löslich in Dinatriumphosphat oder Kalkwasser. Dagegen zeichnet es sich durch seine stärkere Quellbarkeit in Säuren bestimmter Concentration aus (3 % und 50 % Essigsäure, 1 % Salzsäure).

Das **Linin** steht in seinen Eigenschaften zwischen dem Chromatin und Pyrenin, bald sich dem einen oder anderen gleich verhaltend.

Abgesehen von dieser allgemeinen Charakteristik erscheint es mir noch nothwendig, die unterscheidenden Reactionen der Kernsubstanzen specieller anzugeben. Es sind jedoch unter dem Mikroskop nicht alle Reactionen gleich gut zu verfolgen, weshalb ich nur die unzweifelhaften hier anführen werde.

Gehen wir aus von der Tingirbarkeit der einzelnen Kernstoffe, so ergibt sich zunächst eine bedeutende Differenz zwischen Chromatin und Pyrenin einerseits, Linin, Paralinin, Amphipyrenin andererseits, indem die letzteren Stoffe den Farbstoff bedeutend weniger festzuhalten vermögen als die beiden zuerst genannten Substanzen.

Die beiden intensiv tingirbaren Körper sind so leicht von einander zu trennen, dass es auffallend ist, wieso man überhaupt deren Identität annehmen konnte. Es zeigt sich hier recht deutlich, wie fehlerhaft es ist auf eine so einseitige Reaction, wie die Tingirbarkeit zu grossen Werth zu legen.

Das Chromatin ist löslich, das Pyrenin unlöslich in folgenden Stoffen: 20 % Kochsalz, gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia, 1 % und 5 % Monokaliumphosphat, Ferrocyankalium plus Essigsäure, schwefelsaurem Kupfer und in den meisten Fällen auch bei Wasserwirkung und bei 1 % Dinatriumphosphat.

Umgekehrt ist das Chromatin unlöslich, das Pyrenin quellend bis löslich in 3 % Essigsäure, 1 % Salzsäure.

Wesentlich ist auch der Unterschied in der Verdaubarkeit. Das Chromatin wird durch Trypsin sehr schnell, das Pyrenin sehr schwer verdaut. Gegen Pepsin ist das Chromatin sehr widerstandsfähig, das Pyrenin weniger.

Bei der Unterscheidung der weniger tingirbaren Substanzen haben wir zunächst zu trennen Linin und Paralinin einerseits und Amphipyrenin andererseits.

Das Amphipyrenin erweist sich als unlöslich, Linin und Paralinin als quellbar in folgenden Reagentien: 20 % Kochsalz, Kalkwasser, concentrirtem doppelchromsauren Kali, Ferrum solubile und meistens auch in Wasser und 1 % Dinatriumphosphat.

Die weitere Unterscheidung zwischen Linin und Paralinin habe ich schon oben behandelt.

Abgesehen von der Tingirbarkeit unterscheidet sich das Chromatin vom Linin (resp. Paralinin) noch durch seine grössere Löslichkeit in 20 % Kochsalz, 5 % Monokaliumphosphat, Ferrocyankalium plus Essigsäure und schwefelsaurem Kupfer.

In doppelchromsaurem Kali dagegen ist das Chromatin unlöslich, das Linin stark quellbar.

Bei Trypsinverdauung geht in Alkohol gefälltes Chromatin viel schneller in Lösung als Linin und Paralinin.

Von dem Amphipyrenin unterscheidet sich das Chromatin durch dieselben Reactionen wie von dem Pyrenin, ausserdem noch durch die Tingirbarkeit.

Die Unterschiede zwischen Pyrenin und Amphipyrenin habe ich schon im Vorhergehenden besprochen.

Schliesslich bleibt uns noch übrig, die Stoffe der verschiedenen Bestandtheile der Zelle mit einander zu vergleichen.

Die Hauptmasse der Chlorophyllkörper besteht aus Chloroplastin, welcher Stoff dem Cytoplastin sehr nahe steht; wenn wir also bei unserem Vergleich zunächst das Metaxin ausser Acht lassen, so haben wir unser Augenmerk einerseits auf das Plastin, andererseits auf die Kernstoffe zu richten. Bei diesem Vergleich werden besonders jene Reagentien zu berücksichtigen sein, gegen welche sich alle Kernstoffe gleich verhalten.

Die beiden Plastine sind unlöslich in 10 % Kochsalz und in concentrirter Kalilauge, während die Kernstoffe sich hierin als löslich erweisen. Die Kernstoffe sind alle verdaubar in Trypsin, die Plastine werden von diesem Fermente dagegen nicht verändert.

Schon diese Reactionen beweisen, dass die von Zacharias[1]) ausge-

[1]) Bot. Zeitung 1882. p. 656.

sprochene Ansicht, Plastin komme auch im Kerne vor, speciell in der Zwischensubstanz und den Nucleolen, unrichtig ist. Es wird dies ferner noch bestätigt durch das differente Verhalten des Plastins gegenüber dem Linin und dem Pyrenin. Von dem Linin weicht das Plastin noch ziemlich bedeutend ab durch das Verhalten gegen 20 % Kochsalz, gegen Dinatriumphosphat, Kalkwasser und 3 % Essigsäure; von dem Pyrenin noch durch sein Verhalten gegen 1 % und 20 % Dinatriumphosphat, doppelchromsaures Kali und sein bedeutend geringeres Tinctionsvermögen.

Ebenso lässt sich nachweisen, dass das Metaxin mit keinem der Kernstoffe identisch oder näher verwandt ist.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass nur die mit den analogen Namen benannten Stoffe eine nähere Verwandtschaft zeigen, dass die Substanzen untereinander jedoch wesentlich von einander abweichen.

Der Kern ist nicht blos durch seine grössere Dichte von der übrigen protoplasmatischen Substanz verschieden, sondern enthält nur Proteinstoffe, welche im übrigen Protoplasma nicht vorkommen.

Chlorophyllkörper und Cytoplasma stehen einander in ihren chemischen Eigenschaften sehr nahe.

Im Kern ist das Chromatin wesentlich verschieden von der ebenfalls färbbaren Substanz des Nucleolus, dagegen zeigt der Nucleolus und die Kernmembran eine weitgehende chemische Verwandtschaft, was man aus der Identität der Reactionen zu schliessen wohl berechtigt ist.

Legte ich im Bisherigen besonderes Gewicht auf die Unterscheidung der verschiedenen Proteinstoffe im Protoplasma, so möchte ich doch noch hinzufügen, dass es auch eine ganze Reihe von Reactionen gibt, welche allen Theilen des Protoplasmas gemeinsam sind, es sind dies jene Reactionen, welche die Proteinkörper als solche charakterisiren. Im Folgenden ist eine grosse Anzahl derselben aufgezählt, dieselben haben auch für das Protoplasma Gültigkeit und unterscheiden dasselbe von den übrigen in der Pflanze vorkommenden Stoffen. Um Wiederholungen zu vermeiden, verweise ich an dieser Stelle auf § 37.

§ 37. Die den Proteinstoffen gemeinsamen Reactionen [1]).

Unter dem Namen „Proteinstoff" fasse ich alle Eiweisskörper und den Eiweissstoffen nahestehende Substanzen zusammen, welche die Hauptmasse

[1]) Ich verwendete bei der hier folgenden Zusammenstellung:
K. B. Hofmann, Lehrbuch der Zoochemie 1883.
Hoppe-Seyler, Handbuch der physiologisch, pathologisch, chemischen Analyse. V. Aufl. 1883.



des Protoplasmas bilden und sich durch gewisse gemeinsame Reactionen auszeichnen. Ich dehne diesen Namen auch auf die nicht verdaubaren Stoffe, wie Nucleine und Plastine aus. Ich thue dies mit Rücksicht auf das analoge Verhalten in chemischer und physikalischer Beziehung, auf die relativ geringen Unterschiede in Bezug auf die Löslichkeitsverhältnisse und weil ich glaube, dass sowohl Plastine als Nucleine in Bezug auf ihre Bildung in der Pflanze sehr nahe mit den eigentlichen Albuminen zusammenhängen.

Der Ausdruck „Protein" stammt bekanntlich von Mulder her, welcher sich vorstellte, die verschiedenen Eiweisskörper seien Schwefel- und Phosphorverbindungen eines sauerstoffhaltigen organischen Radicals. Die Ansicht Mulders hat sich als unrichtig herausgestellt, aber trotzdem wird es erlaubt sein diesen gewissermassen vacant gewordenen Ausdruck in anderer Weise zu gebrauchen, um einer weiteren Vermehrung und Neubildung von Namen entgegenzuwirken. Ich bezeichne mit dem Namen Proteine auch etwas anderes, als K. B. Hofmann in seiner Zoochemie, der unter Protein ein Umwandlungsproduct aus den Eiweisskörpern (Albumin und Globulin) versteht, das je nach seiner Bindung an Alkali oder an Säure als Alkalialbuminat oder Acidalbumin auftritt.

Es mögen diese Andeutungen genügen, um Verwechselungen vorzubeugen.

Die Zahl der allen Proteinkörpern gemeinsamen Reactionen wäre eine grössere, wenn wir nicht auf einzelne Stoffe, welche ein exceptionelles Verhalten aufweisen, Rücksicht zu nehmen hätten. Hierher gehören vor Allem die bei der Verdauung der Eiweissstoffe entstehenden Peptone, welche bedeutend schwieriger fällbar sind, als die übrigen Stoffe. Ausserdem schliesst sich noch das Chromatin in mancher Beziehung den Peptonen an, Ausnahmen von den allgemeinen Fällungsreactionen bietend, ohne dass ich deshalb beide Stoffe für identisch halte.

Diese Ausnahmen berücksichtigend, werde ich in diesem Paragraphen unter A zunächst solche Reactionen aufzählen, welche allgemeine Gültigkeit haben, und in zweiter Reihe unter B jene Reagentien angeben, welche den meisten Proteinkörpern gemeinsam sind, aber einzelne Ausnahmen zulassen. Ich thue dies, da auch die letzteren Reagentien zur Charakterisirung der Proteinkörper im Allgemeinen wesentlich beitragen.

Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie 1881.

H. Huppert, Analyse des Harns 1881.

Maly's Jahresbericht über die Fortschritte der Thierchemie.

Beilstein, Handbuch der organischen Chemie 1883.

Ritthausen, Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte u. Oelsamen 1872.

Gorup-Besanez, Lehrbuch der physiologischen Chemie. 4. Aufl. 1878.

Originalarbeiten aus der von Hoppe-Seyler herausgegebenen Zeitschrift für physiologische Chemie und der jetzt von W. Kühne und C. Voit herausgegebenen Zeitschrift für Biologie und andere Originalarbeiten.

Zur Orientirung auf diesem Gebiete kann ich besonders das sehr handliche und inhaltsreiche Handbuch der Zoochemie von K. B. Hofmann empfehlen, sowie Hoppe-Seylers Handbuch der physiologisch, pathologisch, chemischen Analyse.

A. Allen Proteinstoffen gemeinsame Reactionen.

1) Quecksilberchlorid (und andere Quecksilberoxydsalze) fällen die Proteinstoffe aus saurer und auch aus schwach alkalischer Lösung.

2) Das Gemisch von salpetersaurem Quecksilberoxydul und salpetersaurem Quecksilberchlorid (Millon's Reagenz) erzeugt in allen concentrirteren Lösungen einen weissen Niederschlag, der nach einiger Zeit, namentlich beim Erwärmen, roth wird. In sehr verdünntem Zustande entsteht eine rothe Lösung. Diese Reaction tritt nicht immer mit der wünschenswerthen Deutlichkeit hervor.

   Man stellt dies Reagens dar, indem man Quecksilber in dem gleichen Gewicht concentrirter Salpetersäure zuerst in der Kälte, dann in der Wärme löst und, sobald alles Metall gelöst ist, mit dem doppelten Volumen Wasser vermischt.

3) Jodquecksilber-Jodkalium fällt die Proteinstoffe aus mässig salzsaurer Lösung.

4) Jodwismuthkalium erzeugt einen Niederschlag (fraglich ob in allen Fällen, zugleich werden auch die Alkaloide gefällt).

5) Salpetersaures Silber bringt einen weissen Niederschlag hervor, der beim Kochen durch Reduction des Silbers schwarz wird.

6) Goldchlorid gibt einen weissen Niederschlag.

7) Platinchlorid wirkt fällend.

8) Phosphorwolframsäure fällt in stark essigsaurer oder stark salzsaurer Lösung die Proteinstoffe sehr vollständig aus.

9) Basisch essigsaures Blei fällt aus neutralen oder sauren Lösungen bei Vermeidung eines Ueberschusses oder Zusatz von Ammoniak

10) Flemming'sche Mischung (0,1 Th. Osmiumsäure, 0,1 Th. Essigsäure, 0,25 Th. Chromsäure auf 100 Th. Wasser) fällt die Proteinstoffe leicht.

11) Gerbsäure fällt vollständig in schwach essigsaurer, aber nur unvollkommen in neutraler oder alkalischer Lösung. Es wäre möglich, dass diese sonst vortreffliche Reaction ausnahmsweise nicht eintreten könnte, indem nach Pfeffer (Untersuchungen aus dem Tübinger botanischen Insitut Band II, Heft 1) Eiweissstoffe im Zellsafte mancher Pflanzen gelöst vorkommen sollen, trotzdem dieser schwach sauer reagirt und gerbstoffhaltig ist. Es scheint mir wünschenswerth zu sein, durch weitere Untersuchungen festzustellen, ob hier wirklich Proteinkörper vorlagen, und wenn dies der Fall ist, durch welchen Umstand die Fällung hintangehalten wurde.

12) Concentrirte Picrinsäure erzeugt einen Niederschlag, es ist jedoch fraglich, ob in allen Fällen. Besser als Picrinsäure allein wirkt eine Mischung von Picrinsäure und Alkohol.

13) In Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Petroläther sind die Proteinstoffe unlöslich.

14) In Eau de Javelle lösen sich die Proteinstoffe auf, sehr wahrscheinlich unter weitgehenden Zersetzungen.
15) Nicht zu concentrirte Aetzalkalien lösen die Proteinstoffe oder bringen sie zum Aufquellen.
16) Concentrirte Salpetersäure gibt einen gelben Niederschlag oder eine gelbe Lösung, welche sich bei Zusatz von Ammoniak schön orangeroth färbt (Xanthoproteinreaction).
17) Beim Verbrennen entwickeln die Proteinstoffe den Geruch nach verbrannten Federn oder Haaren.

B. Den meisten Proteinstoffen gemeinsame Reactionen[1]).

1) Ferrocyankalium oder Ferricyankalium fällt nach vorausgegangenem Ansäuern mit Essigsäure. Der Niederschlag kann sich im Ueberschuss des Fällungsmittels wieder auflösen. Peptone geben keinen Niederschlag, ähnlich verhält sich das Chromatin (vgl. § 23).
2) Frisch bereitetes essigsaures Eisenoxyd wirkt fällend. Soweit meine Erfahrungen an Auszügen von Erbsen-, Bohnen- und Maissamen reichen, bleiben ausser den Peptonen noch andere Stoffe in Lösung. F. Hofmeister[2]) gibt folgendes Verfahren an zur Trennung der Peptone von den übrigen Eiweissstoffen. Zu ½ Liter der zu untersuchenden Flüssigkeit bringt man ungefähr 10 ccm einer concentrirten Lösung von Natriumacetat und tröpfelt dann so lange eine concentrirte Lösung von Eisenchlorid zu, bis die Flüssigkeit bleibend rothe Färbung angenommen hat. Man stumpft nun die stark saure Flüssigkeit mit Alkali bis zur neutralen oder ganz schwach sauren Reaction ab, kocht auf und bringt den Niederschlag nach dem Erkalten auf's Filter. Ist Eisen und Alkalizusatz richtig getroffen, so ist das Filtrat, wie man sich durch Prüfung mit Essigsäure und Ferrocyankalium überzeugen kann, frei von Eisen und Eiweiss. War Pepton vorhanden, bleibt dies in Lösung.
3) Osmiumsäure erzeugt Niederschläge.
4) Jod in Jodkalium ebenso.
5) Brom ebenso.
6) Gesättigte Lösung von schwefelsaurem Ammoniak fällt die Proteinkörper mit Ausnahme des Peptons und Chromatins.
7) Sättigung der Lösung mit Natriumsulfat wirkt bei Gegenwart von Essigsäure oder Salzsäure stark fällend (ausgenommen Peptone).
8) Aceton und Phenol scheinen in vielen Fällen Niederschläge zu erzeugen (allgemeine Verbreitung dieser Reaction mir zweifelhaft).

---

[1]) Ich erwähne hier auch jene Reactionen, deren allgemeinere Verbreitung noch nicht untersucht ist.

[2]) Zeitschrift für physiologische Chemie, herausgegeb. v. Hoppe-Seyler 1880 Bd. IV. p. 263.

9) Alkohol absolutus fällt die meisten Proteinkörper vollständig, wenn der Flüssigkeit mindestens das dreifache Volumen Alkohol zugesetzt wurde. Es scheinen jedoch einige Stoffe in geringer Menge sich zu lösen, namentlich bei Gegenwart von Aetzalkalien und Alkalicarbonaten. Heisser Alkohol wirkt in diesem Falle stärker lösend, als kalter. Zu diesen letzteren Substanzen gehören die von Ritthausen unterschiedenen Stoffe des Klebers: Glutenfibrin, Gliadin und Mucedin. Es ist jedoch nicht sicher gestellt, in wie weit hier die Löslichkeit durch die Anwesenheit alkalischer Substanzen bedingt ist und in wie weit dies ursprünglich in der Pflanze vorhandene Stoffe sind.
10) Coagulirte Proteinstoffe vermögen Farbstoffe mehr oder weniger stark anzuziehen und festzuhalten.

Die möglicher Weise noch weitere Verbreitung zeigenden Färbungserscheinungen bei der Behandlung der Proteinstoffe mit Schwefelsäure und Essigsäure (Adamkiewicz'sche Reaction) mit Schwefelsäure und Zucker sind bei den Reactionen des Albumins erwähnt (vgl. § 38).

§ 38. Eigenschaften und Unterscheidung der bisher auf macrochemischen Wege isolirten Proteinstoffe.

Indem wir das Verhalten der Proteinstoffe in den Pflanzenzellen gegen verschiedene Lösungs- und Fällungsmittel untersucht haben, war es uns möglich, gewisse Substanzen von einander zu unterscheiden. Will man weiter vordringen, so darf man sich hiermit nicht genügen lassen, man muss, die microchemische Methode als Basis benutzend, zur Darstellung der einzelnen Stoffe übergehen, um ihre Eigenschaften voll und ganz kennen zu lernen, um schliesslich bestimmte Schlüsse über die Entstehung und die physiologische Bedeutung der einzelnen Stoffe ziehen zu können.

Es fragt sich nun, sind wir nicht schon gegenwärtig im Besitze einer hinreichenden Menge von Thatsachen, um auf diesem Gebiete weiter bauen zu können? Für den Fall, dass die bisher macrochemisch aus Thier und Pflanze dargestellten Proteinsubstanzen in ihren Löslichkeitsverhältnissen und Reactionen mit den von uns gefundenen übereinstimmen würden, wären wir bis zu einem gewissen Grade berechtigt, auch auf die Analogie der übrigen Eigenschaften zu schliessen, wir hätten dann zwar nicht die directe Untersuchung unserer Stoffe, aber doch von sehr nahestehenden und verwandten Stoffen. Von diesem Gesichtspunkte aus hat also die Frage eine entschiedene Bedeutung, in wieweit die von uns in der Pflanze nachgewiesenen Proteinstoffe mit den bisher bekannten auf macrochemischen Wege dargestellten Stoffen übereinstimmen?

Aber auch noch von einem anderen Gesichtspunkte aus ist die von uns aufgeworfene Frage interessant, indem wir durch eine derartige Untersuchung beurtheilen können, welchen Werth die bisher dargestellten Proteinstoffe für die Physiologie resp. die Vorgänge im lebenden Organismus besitzen.

Kommen Stoffe mit denselben Eigenschaften in der Pflanze überhaupt nicht vor, so sind selbst die schönsten und detaillirtesten Untersuchungen über solche Derivate und Kunstproducte für uns ohne Bedeutung. Bei allen Darstellungen von Eiweisskörpern geht man stillschweigend von der Voraussetzung aus, dieselben Stoffe finden sich auch im Organismus vor, die Aufgabe der Physiologen und Biologen ist es zu prüfen, ob diese Voraussetzung richtig ist.

Zu weiterem Gebrauche und um Anderen die Untersuchung derartiger Fragen zu erleichtern, andererseits aber auch um die vielfach unklaren Vorstellungen über die Eigenschaften der Proteinstoffe, die in botanischen und zoologischen Kreisen herrschen, zu klären, habe ich mich entschlossen, an dieser Stelle eine Uebersicht über die bisher bekannten Eigenschaften der Proteinstoffe zu geben.

Ich bediene mich bei dieser Zusammenstellung der Eintheilung der Proteinstoffe, welche Hoppe-Seyler in seinem Handbuch der physiologisch-pathologisch-chemischen Analyse (V. Aufl. 1883 pag. 265 und 290) angegeben hat. Derselbe unterscheidet zwischen Albuminstoffen oder Proteinen [1]) und den Proteiden d. h. Körpern, welche durch Spaltung neben anderen Stoffen Eiweissstoffe liefern. Die Albuminstoffe gliedert Hoppe-Seyler in 10 Gruppen, von denen einige Gruppen mehrere nahe verwandte Stoffe umfassen.

I. **Albumine:** 1) Serumalbumin,
2) Eieralbumin,
3) Muskelalbumin.

II. **Globuline:** A. Globuline nicht fällbar durch Sättigung der neutralen Salzlösung mit Kochsalz.
1) Vitellin.
2) Gobuline der Krystalllinse.

B. Globuline fällbar durch Sättigung der neutralen Salzlösungen mit Kochsalz.
1) Myosin.
2) Serumglobulin.
3) Fibrinogen.

III. **Fibrine.**

IV. **Mucin.**

V. **Coagulirbare Albuminstoffe.**

VI. **Amyloid.**

VII. **Acidalbumine:** 1) Syntonin.
2) Acidalbumin.

VIII. **Albuminate:** 1) Casein.
2) Alkalialbuminat.

IX. **Hemialbumose oder Propepton.**

X. **Peptone.**

[1]) Ich selbst gebrauche den Ausdruck Proteinstoffe in anderer Bedeutung als Hoppe-Seyler, indem ich Albuminstoffe und die Proteide mit dem gemeinsamen Namen Proteinstoffe bezeichne.

Da nicht zu erwarten war, dass die Eiweissstoffe der Pflanzen und Thiere vollständig identisch sind, so kam es mir mehr darauf an, die einzelnen Gruppenunterschiede zu fixiren, als die so nahe verwandten Unterabtheilungen zu unterscheiden. Ich habe daher von den Albuminen nur das Eieralbumin, von den Globulinen das Vitellin und Myosin in meiner Darstellung berücksichtigt.

Da ausserdem sowohl Mucin als Amyloid in den Pflanzen bisher nicht gefunden sind, habe ich mich für diese Stoffe mit einer kurzen Charakteristik begnügt. Ebenso scheinen mir die Fibrine und coagulirten Eiweissstoffe für die Pflanze von geringerer Bedeutung zu sein, weshalb ich dieselben weniger ausführlich behandelt habe.

Von den Proteiden Hoppe-Seylers, zu welchen die Blutfarbstoffe, Chondrogen und Chondrin, Metalbumin und Paralbumin und die Nucleine gehören, sind für uns nur die Nucleine von Bedeutung, ich habe diese also bei meiner Zusammenstellung allein berücksichtigt. Dagegen wären den Nucleinen noch die Plastine anzureihen, welche Hoppe-Seyler noch nicht berücksichtigt hat, die Eigenschaften derselbeu habe ich jedoch schon im § 36 besprochen.

Die den Proteinkörpern gemeinsamen Reactionen wurden an dieser Stelle nicht weiter berücksichtigt, und nur wenn das Ausbleiben der einen oder anderen Reaction für einen Stoff charakteristisch ist, habe ich diese Reaction im Folgenden angeführt.

Von grossem Werthe waren für mich Hoppe-Seylers Handbuch der physiologisch-pathologisch-chemischen Analyse und C. B. Hofmann's Handbuch der Zoochemie, auf welche ich mehrmals verweisen werde, besonders was den rein analystischen Theil anbelangt. Von Hoppe-Seyler's Handbuch citire ich die im Jahre 1883 erschienene 5. Auflage.

Albumin.

Es soll hier besonders das Eieralbumin berücksichtigt werden. Dasselbe ist im Eiweiss der Vogeleier innerhalb zarter Membranen eingeschlossen. Zur Gewinnung des Albumins zerschneidet man das Eierweiss mit der Scheere oder verletzt die Häute durch Schütteln mit Glasscherben, fügt Wasser hinzu und erhält so eine klar filtrirbare Lösung. Zur Befreiung von dem in dem Eierweiss noch vorkommenden Globulin neutralisirt man mit Salzsäure, dialysirt 2 Tage lang, verdünnt es mit dem 3fachen seines ursprünglichen Volumens, leitet Kohlensäure hindurch und filtrirt durch ein 3faches Filter. Sollte sich nach Stunden noch ein Niederschlag zeigen, so filtrirt man noch einmal. Das Filtrat dunstet man bei 40^0 in flachen Schalen ab.

Man kann das Albumin auch auf andere Weise durch Sättigung mit Magnesiumsulfat und dann mit Natriumsulfat reinigen. Das Nähere über diese Methode ist bei Hoppe-Seyler pag. 268 nachzusehen.

Trockenes Albumin ist eine durchsichtige gelbliche, spröde, leicht zer-

reibliche Masse. Die wässerige Lösung ist klebrig, nicht fadenziehend, verdünnte Lösungen sind leicht filtrirbar. Sämmtliche Lösungen zeigen bei auffallendem Licht eine schön grüne Fluorescenz, welche bei Essigzusatz im Ueberschuss verschwindet. Die Form der Gerinnung ist je nach Concentration und Salzgehalt der Lösung verschieden. Dialysirtes Albumin verhält sich ebenso wie nicht dialysirtes, wenig Salze enthaltendes Albumin

Das Albumin geht bei der Dialyse nur in sehr geringer Menge durch die Membranen. Bei Filtration durch Darmstücke ist bei mässigem Druck das Filtrat nur wenig eiweissärmer als die ursprüngliche Lösung. Die Dialyse entfernt die löslichen Salze, doch bleiben immer noch unlösliche zurück: Erdphosphate mit Spuren von Sulfaten und Eisen, im günstigsten Falle 0,4—0,6 %. Die neutralen Salze verlassen das Eiweiss früher als die alkalisch reagirenden.

Natives Eieralbumin reagirt alkalisch, ob reines salzfreies Albumin neutral oder sauer reagirt, ist unentschieden.

Die specifische Drehung der 2—6 procentigen Lösung beträgt $(\alpha)_D = -35{,}5^0$ (Hoppe-Seyler), $-$ 38,1^0 (Haas), $-$ 37,79^0 (Starke). Sie ist geringer als bei dem Serumalbumin für welches $(\alpha)_D = -57{,}3^0$ (bei geringem Salzgehalt) oder $-$ 62,6^0 bis $-$ 64,59^0 (bei viel Kochsalzgehalt) ist.

Das Eieralbumin enthält nach Hammarsten

C.	52,25 %
H.	6,9 %
N.	15,25 %
S.	1,93 %
O.	25,67 %

Zum Vergleich führe ich noch die von Hammarsten für Pferdeblutserum und Albumin aus dem Pleuraexsudat gefundenen Werthe an.

	Pferdeblutserum.	Pleuraexudat.
C.	53,05	52,25
H.	6,85	6,65
N.	16,04	15,88
S.	1,80	2,27
O.	22,26	22,95

Auf Grund der Befunde an Kupferverbindungen hat Harnack für das Albumin die Formeln $C_{204}H_{320}N_{52}O_{66}S_2Cu$ und $C_{204}H_{318}N_{52}O_{66}S_2Cu_2$ aufgestellt, die einem Kupfergehalte von 1,35 resp. 2,64 % entsprechen. Analysen einer Platinverbindung ausgeführt von Fuchs und von Comaille, die 8,02 — 8,1 % Platin nachwiesen, stimmen mit dem Harnack'schen Resultat überein.

Lieberkühn hatte schon früher die Formel $C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22}$ aufgestellt, welche nach den Untersuchungen von O. Loew zu verdoppeln ist. Die einfache Formel soll nach O. Loew das Pepton darstellen.

In Wasser ist Albumin löslich und verliert diese Löslichkeit auch bei längerem Aufbewahren in wässeriger Lösung nicht. Wahrscheinlich ist

Albumin schon an sich löslich und wird nicht erst durch die geringe Salzmenge, welche man durch Dialyse nicht mehr entfernen kann, in Lösung gehalten.

In verdünnter und concentrirter Kochsalzlösung ist Albumin löslich. Desgleichen in Magnesiasulfat, in welchem es auch bei Sättigung bei 30° C. löslich bleibt.

Sättigung mit Kalium- und Ammoniumchlorid gibt nur geringe Trübung.

Von Nitraten gibt nur das Natriumnitrat bei der Sättigung eine etwas beträchtlichere Fällung.

Gesättigte Lösung von Natriumacetat wirkt stark fällend.

Gesättigte Lösung von Kalium- und Natriumsulfat (neutrales) gibt geringen, Ammoniumbisulfat bedeutenden Niederschlag.

Natriumbisulfat und Ammoniumbisulfat (gesättigt) fällen alles Eiweiss aus.

Durch Eintragen von Magnesiumsulfat bis zur Sättigung werden die Globuline gefällt, die Albumine bleiben in Lösung. Aus dieser Lösung werden die Albumine durch Eintragen von Natriumsulfat bis zur Sättigung ausgefällt.

Gesättigte Lösung von Natriumoxalat, Rhodanammonium, Ammoniumacetat fällen unerheblich.

Gesättigtes Calciumchlorid gibt die stärkste Fällung. Der niedergeschlagene Eiweissstoff ist abweichend von den übrigen Salzfällungen nach Entfernung des Salzes durch Dialyse in Wasser unlöslich.

In Mono-, Di- und Trikalium- resp. Natriumphosphaten jeder Concentration sind die Albumine löslich. Das Verhalten gegen Monokaliumphosphat bietet einen Unterschied gegenüber den Globulinen, welche durch KH_2PO_4 ausgefällt werden. (Von mir an den Globulinen des Erbsensamens gefunden).

Freies Kali oder Natron befördern die Lösung von Albuminniederschlägen. Albumin ist leicht löslich, wird aber schon durch geringe Mengen in Alkalialbuminat übergeführt, das beim Neutralisiren durch Säuren ausgefällt wird. Die Alkalialbuminatbildung wird durch Erwärmen durch die Gegenwart von Kochsalz, Natriumphosphat oder Alkohol beschleunigt. Sehr concentrirte Lösungen von Albumin tropfenweise mit concentrirter Kalilauge versetzt, erstarren zu einer völlig durchsichtigen Gallerte.

Durch die Umwandlung in Kalialbuminat wird die Circumpolation gesteigert.

Verdünntes Aetzammoniak wirkt nur allmählig verändernd, bei längerer Einwirkung entsteht ein Eiweisskörper, der durch Neutralisation der Lösung ausfällt.

Unverändertes Eiweiss wird bei der Neutralisation der Lösung nicht gefällt, dies geschieht jedoch, wenn es Acidalbumin oder Alkalialbuminat enthält.

Kalk- und Barytwasser befördern die Lösung von Albuminniederschlägen.

Tricalciumphosphat wird in frisch gefälltem Zustande von Eiweiss etwas gelöst. 1 Liter 7procentige Albuminlösung löst 3 grm Phosphat.

Kohlensäure fällt das Albumin nicht.

Verdünnte Essigsäure fällt Albumin. Setzt man zur dialysirten Eiweisslösung eine nur so geringe Menge Essigsäure, dass sie durch Lakmuspapier nicht angezeigt wird, so fällt beim Kochen das Eiweiss vollständig aus. Die Gerinnung des Eiweisses wird durch den Essigsäurezusatz befördert. Der Niederschlag ist in Alkalien schwer, in Essigsäure und Kochsalz nicht löslich (das Serumeiweiss liefert einen in Kochsalz unvollständig löslichen Niederschlag). Hat man ein Minimum Säure zuviel hinzugefügt, so tritt beim Kochen keine Ausfällung ein. Bei nicht dialysirten Albuminen kann der Essigsäurezusatz etwas grösser sein. Ueberschüssige und concentrirte Essigsäure verwandelt Albumin in eine Gallerte von Acidalbumin. Bei Ueberschuss der Säure löst sich die Gallerte nicht auf, es geschieht dies jedoch beim Erwärmen.

Sehr verdünnte Salzsäure gibt keinen Niederschlag. Concentrirte Salzsäure schlägt Albumin aus der wässerigen Lösung leicht nieder, der Niederschlag löst sich nicht im Ueberschuss der Säuren und auch nicht sogleich beim Einbringen in Wasser. Beim Kochen in starker Salzsäure löst sich der Niederschlag nur langsam auf, von Kalilauge wird er dagegen leicht aufgenommen.

Verdünnte Schwefelsäure gibt keinen Niederschlag, in concentrirter Schwefelsäure ist Eialbumin schwer (Serumalbumin leicht) löslich, durch Wasserzusatz entsteht ein Niederschlag, der sich in reinem Wasser nur schwer löst. Das Albumin wird durch die concentrirte Schwefelsäure zersetzt (vgl. Albumosen).

Verdünnte Salpetersäure gibt keinen Niederschlag, dagegen fällt concentrirte. Der Niederschlag ist bei grossem Säureüberschuss wieder etwas löslich. Der Niederschlag löst sich leicht in Alkalien und zwar mit orangerother Farbe. Ueber sehr verdünnter Salpetersäure dialysirt, verbindet sich das Eiweiss zu einer festen durchsichtigen in warmem Wasser löslichen Gallerte, die mit Alkali neutralisirt gerinnt. Aehnlich verhalten sich nicht zu verdünnte Albuminlösungen bei der Dialyse über Schwefelsäure, Salzsäure und Phosphorsäure.

Die Umwandlung des Albumins in Acidalbumin geht um so schneller vor sich, je höher die Temperatur, je stärker die Concentration der zugesetzten Säure, und je grösser ihre relative Quantität im Vergleich zum Albumingehalt der Flüssigkeit ist.

Was die Gerinnung der Albuminlösungen beim Erwärmen anbelangt, so schwankt die Coagulationstemperatur innerhalb ziemlich weiter Grenzen, je nach der Menge der beigemengten anorganischen Substanzen. Möglichst reine Eieralbuminlösungen beginnen bei 55° C. sich zu trüben, bei 58°

werden sie undurchsichtig und scheiden bei 59,6° das Eiweiss vollkommen aus. Zusatz von geringen Mengen Säuren und Alkalien, sowie Beimengung von neutralen Salzen bewirkt, dass die Coagulation bei anderen Temperaturgraden eintritt. Wegen dieser Abhängigkeit vom Salzgehalt glaube ich, dass ein Erkennen von Eiweissstoffen in der Pflanzenzelle durch die Bestimmung der Coagulationstemperatur nicht ausführbar sein wird, da wir nicht feststellen können, wie gross die in einem Strukturelement vorhandene Salzmenge ist.

Im Vacuum wird schon bei 30—35° C. ein Theil des Eiweisses zuerst in gallertigen, dann in festen faserigen, dem Blutfibrin ähnlichen Flocken abgeschieden. Die salzärmste Eiweisslösung unterscheidet sich von der nativen nicht wesentlich, sondern nur in der Form der Gerinnung. Die salzarme wird durch Hitze (und durch Alkohol) opalisirend, ist sie concentrirt, so wird sie durchsichtig, milchig, ohne beim Stehen sich zu klären und einen Bodensatz zu bilden. In dem Maasse als sie im Salzgehalte der nativen sich nähert, wird die Coagulation mehr grobflockig und setzt sich das Gerinnsel leichter ab. Die überstehende Flüssigkeit klärt sich. Die durch Kochen opalisirend gewordene Lösung scheidet aber sogleich flockiges Eiweissgerinnsel ab, wenn man Säuren oder Salze zusetzt (Hofmann p. 617).

Möglichst salzfrei dargestelltes Serumalbumin gerinnt in ungefähr 1 proc. Lösung bei circa 50°, durch Zusatz von Kochsalz oder anderen Neutralsalzen wird auch hier die Coagulationstemperatur erhöht.

Getrocknetes Albumin kann auf 160° erwärmt werden, ohne dass es seine Löslichkeit einbüsst, dies geschieht jedoch bei 170°.

Alkohol fällt vollständig. Der Niederschlag ist in Wasser nicht wieder löslich (sehr salzarmes Serumalbumin löst sich in Wasser wieder theilweise auf, wenn der Alkohol nicht zu lange gewirkt hat, bei längerer Alkoholwirkung wird es ganz unlöslich in Wasser). Salzarme Albuminlösungen, denen zuviel Alkali oder Säure zugesetzt ist, sind durch Alkohol nicht fällbar. Auch dialysirtes Albumin wird durch Alkohol leicht verändert. Sehr verdünnter Alkohol gibt keinen Niederschlag, 50procentiger gibt zuerst nur eine Trübung, die sich langsam vermehrt. Selbst der frische Alkoholniederschlag löst sich nicht in Ammoniak, dagegen geschieht dies in verdünnter Kalilauge. Kalihaltiger Weingeist fällt nicht.

Beim Schütteln der noch ungereinigten Albuminlösungen mit Aether tritt allmählig Coagulation ein. Je mehr Alkalien und Salze vorhanden sind, desto schwerer coagulirt das Albumin. Die durch das Schütteln mit Aether entstehende Gallerte besteht aus lauter Kugeln, die wie Zellen aussehen, und vollständig einem künstlichen Gewebe gleichen.

Das Albumin wird leicht durch Pepsin in saurer Lösung, durch Trypsin in neutraler oder schwach alkalischer Lösung verdaut. Eine Erhöhung der Temperatur auf circa 40—45° C. beschleunigt den Vorgang. Es werden zunächst Uebergangsproducte, Hemialbumose oder Propepton (Albumosen), dann Pepton gebildet. Ueber die bei der Verdauung entstehenden Producte findet man Näheres unter Albumosen und Pepton.

Das Albumin wird aus der schwachsauren Lösung durch Ferrocyankalium, etwas langsamer durch Platincyankalium gefällt. Der Niederschlag mit Soda neutralisirt gibt eine dem Globulin ähnliche Substanz, welche jedoch nach kurzem Stehen in Acidalbumin übergeht (?).

Bei Behandlung mit verschiedenen Salzen schwerer Metalle, z. B. Eisenchlorid, Quecksilbernitrat, Platinchlorid entsteht Acidalbumin.

Mit 4 Vol. Wasser verdünntes filtrirtes Eierweiss wird mit 5procentiger Sublimatlösung bis zur vollständigen Bindung gefällt. Durch Natriumcarbonat darf noch keine gelbe Färbung erzeugt werden. Der Niederschlag in 20% Kochsalz gelöst und filtrirt bildet Bambergers lösliches Quecksilberalbuminat. Diese Reaction dürfte sich vielleicht sehr gut zur Unterscheidung verschiedener Proteinstoffe in der Zelle eignen.

Cyangas in Albuminlösung geleitet, erzeugt einen Niederschlag aus Eiweiss + Cyanwasserstoff.

Fällt man Eiweiss mit Silbernitrat, löst den Niederschlag mit einer Mischung von gleichen Theilen Essig- und Schwefelsäure, so geht die Farbe der Lösung rasch von Violett durch Roth und Orange in Gelb über, sinkt der Eiweissgehalt, so geht die Farbenwandlung in derselben Reihenfolge zu Violett zurück. Fällt man Eiweiss mit Goldchlorid und löst mit obigem Gemisch, so entsteht eine rothe, fällt man mit Kupfersulfat, so entsteht eine violettblaue Lösung. Alle diese farbigen Lösungen der Metallniederschläge zeigen zwischen E und F einen breiten Absorptionsstreifen. Den gleichen zeigt die Lösung von Eiweiss (2%) allein in Essigsäure — Schwefelsäure?

(*)[1]) Schwemmt man oder löst man Eiweiss in Wasser auf, fügt etwas Zuckerlösung und dann vorsichtig concentrirte Schwefelsäure zu, so erhält man eine rothe Lösung.

(*) Versetzt man Eiweisslösung mit sehr wenig Kupfersulfat und fügt Kali oder Natronlauge hinzu, so entsteht beim Kochen eine violette bis blauviolette Flüssigkeit.

(*) Durch Schwefelsäure und etwas Molybdänsäure wird festes Albumin blau gefärbt.

Concentrirte Schwefelsäure von 1,8095 sp. Gew. gibt mit Eiweisslösungen je nach der Concentration derselben verschiedene Farben (Adamkiewicz[2]).

Concentration der Eiweisslösung	1,5 %,	7 %,	15 %,	22 %,	32 %.
Färbung	grüngelb	orange	roth	violett	Trübung.

Wird Eiweiss zunächst mit reiner Essigsäure versetzt, so bewirkt langsames Hinzufügen von concentrirter Schwefelsäure das Auftreten eines violetten, nach unten zu mit grünem Saum sich absetzenden Ringes an den

[1]) Die mit einem (*) versehenen Reactionen sind nicht auf das Eialbumin beschränkt, sondern sehr wahrscheinlich auch anderen Eiweissstoffen (Globulinen, Albuminaten, Peptonen) eigen.

[2]) Näheres in Pflügers Archiv für Physiologie. Bd. 9, p. 156—162, wo auch die Behandlung von Metallniederschlägen mit Schwefelsäure besprochen ist.

Berührungsgrenzen beider Säuren. Schon die Gegenwart von 0,0004 ccm reinen Hühnereiweisses soll genügen, um mit Essigschwefelsäure diese Reaction zu geben. Ist Essigsäure und Schwefelsäure in gleicher Menge vorhanden, so bleibt die Farbe der Lösung unausgesetzt in der Mitte der Scala stehen, ist hellroth oder rosa. Mit dem Uebergewicht der Essigsäure über die Schwefelsäuremenge stellt sich Violettfärbung der Lösung ein. Ueberwiegt die Schwefelsäure, so nähern sich die Farben der einfachen Schwefelsäurewirkung.

Zersetzungsprodukte des Albumins.

Mit Jodwasserstoff in zugeschmolzenen Röhren erhitzt, entsteht Leucin, Tyrosin und eine peptonartige Substanz.

Beim Kochen mit Barytwasser entwickelt das Eiweiss 9% des gesammten Stickstoffs in Gestalt von Ammoniak. Derselbe ist somit lockerer gebunden als der übrige Stickstoff. Bei Fäulniss mit Pancreasgewebe zerfällt es in Indol, Skatol, Phenol, Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Amidovaleriansäure, Leucin, Tyrosin; daneben entweicht Ammoniak, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff. Zum Beginn der Fäulniss wird Hypoxanthin gebildet. Da diese Umwandlung durch selbstthätige lebende Organismen geschieht, ist man nicht im Stande zu sagen, was hier unmittelbares Zersetzungsprodukt des Albumins und was durch den Stoffwechsel in den Bacterien erzeugte Stoffe sind. Einen Anhaltspunkt gibt vielleicht das Schmelzen mit Kali, bei dem analoge Zersetzungsprodukte entstehen.

Mit Wasser und Brom unter Druck erhitzt entstehen: Bromanil, Tribromamidobenzoësäure, Bromoform, Oxalsäure, Asparaginsäure, Leucin, Leucinimid, Capronsäure, Tribromessigsäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure.

Es sind hier nur einige Zersetzungsarten genannt, es mag dies genügen, um die Vermuthungen gerechtfertigt erscheinen zu lassen, dass im Albumin ein Theil des Stickstoffs in besonderer Form gebunden ist und dass im Albumin bestimmte Stoffgruppen, wie Leucin, Asparagin, Tyrosin vorhanden sind. Die letzteren Substanzen sind ja sehr wahrscheinlich bei der Synthese der Eiweissstoffe in der Pflanze in hervorragender Weise betheiligt.

Vitellin.

Vitellin findet sich sowohl in thierischen als pflanzlichen Organen sehr verbreitet vor, denen es nach vorheriger Behandlung mit Aether durch 10procentige Kochsalzlösung entzogen werden kann. Das Filtrat ist mit einer grossen Menge von Wasser zu fällen und durch wiederholtes Auflösen und Ausfällen zu reinigen; wird Myosin vermuthet, ist es auch nothwendig durch Eintragen von Kochsalzlösung bis zur Sättigung dieses auszufällen. Man erhält das Vitellin nach der eben angegebenen Methode niemals vollständig rein, namentlich wenn man zur Darstellung Eidotter verwendet, enthält es immer noch Nuclein und Lecithin.

Entschieden vorzuziehen ist die Gewinnung des Vitellins aus der Paranuss,

in welcher es krystallisirt vorkommt. Nach einer von E. Drechsel[1]) angegebenen Methode kann es daraus wieder krystallisirt erhalten werden (aber nur das Magnesiumsalz), die Krystalloide werden zunächst durch Schlämmen in Petroläther von den übrigen Substanzen befreit, sodann in Wasser gelöst. (Sie zeigen sich hier in Wasser löslich, in Folge ihres Gehaltes an Dikaliumphosphat?) Die Lösung wird mit CO_2 gefällt, der gut gewaschene Niederschlag mit Magnesia digerirt und die so erhaltene Lösung in einen Dialysator gebracht und dieser in absoluten Alkohol gesetzt. Das Wasser diffundirt zum Alkohol und kleine Krystallkörner bleiben zurück. Diese werden abfiltrirt, zumeist mit Alkohol, dann mit Aether gewaschen und getrocknet. Sie enthalten 13,8% Wasser, 1,43% Magnesia und sind das Magnesiumsalz des Vitellins.

Etwas abweichend ist das von Grübler[2]) zur Darstellung aus Kürbissamen angegebene Verfahren.

Die geschälten Kürbissamen werden zu feinem Pulver zermahlen und daraus durch Schlämmen mit Oel und Petroleumäther zunächst die Proteinkörner isolirt, denen man die letzten Fettspuren durch Aether entzieht. So dargestellt bildet die Proteinsubstanz ein feines weisses Pulver. Krystallinisches Eiweiss wird folgendermaassen dargestellt: Die Proteinsubstanz wird (nach Weyl) mit einer 10 proc. Kochsalzlösung ausgezogen, in das neutralisirte Filtrat Kochsalz bis zur Sättigung eingetragen, von dem aus Globoiden bestehenden Niederschlage abfiltrirt, das klare Filtrat mit viel Wasser gefällt und endlich der reinweisse Eiweissniederschlag durch Auswaschen möglichst von Salzen befreit. Um dies amorphe Eiweiss in das krystallisirte zu verwandeln, wendet Grübler das neuere Drechsel'sche Verfahren an. Der Niederschlag wird bei Zimmertemperatur in 20 % NaCl gelöst, das klare Filtrat mit Wasser bis zur Trübung versetzt, auf 30° bis zum Verschwinden derselben erwärmt, dann nochmals mit Wasser von gleicher Temperatur bis zum Milchigwerden verdünnt, auf 40—42° erwärmt und die nun wieder klare Flüssigkeit langsam erkalten gelassen. Das sich in wohlausgebildeten Krystallen absetzende Eiweiss wird auf dem Filter gesammelt, gewaschen, nach Durchsaugen von Alkohol und Aether im trocknen Luftstrome getrocknet.

Die Krystalle lösen sich in Neutralsalzen, verdünntem Alkali, auch bei längerer Berührung mit Wasser behalten sie ihre krystallinische Form, während die frischen Krystalle bald dadurch amorph werden. Durch verdünnte Alkalien, sowie schon durch kohlensäurehaltiges Wasser wird das Eiweiss zum Theil in Salzlösungen unlöslich, weshalb zu jener Darstellung am besten Neutralsalze verwendet werden.

Die Krystalle sind in allen Fällen octaedrisch.

Die Lösung des Vitellins in Kochsalz ist eine nicht fadenziehende, schwach gelblich gefärbte, filtrirbare Flüssigkeit, der beim Eintropfen in ein grösseres

---

[1]) Journal für praktische Chemie. Bd. 19. (N. F.) p. 331—334.

[2]) Journal f. pract. Chemie. Bd. 23, p. 97—137.

Wasserquantum entstehende Niederschlag ist feinflockig, setzt sich leicht am Boden des Gefässes ab.

Das Vitellin geht durch thierische Membranen nur schwer oder gar nicht durch, kann also durch Dialyse von den Salzen befreit werden.

In der Asche hat man Calcium, Eisen, Magnesium und Phosphorsäure, sowie Spuren von Kupfer gefunden, ausserdem enthält das Vitellin Säure und Base der zur Darstellung verwendeten Salze in aequivalenten Mengen, weshalb nach Grübler die Krystalle als eine Eiweissverbindung derselben aufgefasst werden sollen. Mit Calcium, Baryum, Magnesium geht es Verbindungen ein, so dass Schmiedeberg zur Ansicht kam, dass das Vitellin eine sehr schwache Säure sei, deren Salze jedoch durch Kohlensäure zerlegt werden. Die Aleuronkrystalle der Pflanzen hält man für Doppelverbindungen der Alkalien und alkalischen Erden.

Die procentige chemische Zusammensetzung schwankt innerhalb nicht zu weiter Grenzen. Das Vitellin enthielt

	aus Kürbissamen (Grübler)	aus Kürbissamen (Barbieri)		aus der Paranuss (Weyl)
C.	53,21	51,36	51,88	52,43
H.	7,22	7,58	7,51	7,12
N.	19,22	17,86	18,08	18,10
S.	1,07	0,54	0,60	0,55
O.	19,10	22,66	21,93	21,80
Asche	0,18	1,12	1,11	—

In Wasser ist das Vitellin unlöslich, bei längerem Stehen unter Wasser geht es in einen in 10 % Kochsalz unlöslichen Zustand über. Die Fällung aus der Kochsalzlösung durch Wasser ohne Einleiten von Kohlensäure ist unvollständig.

Eine Kochsalzlösung von 5—10 % löst leicht auf, durch hochconcentrirte Kochsalzlösung wird das Vitellin nicht gefällt (Unterschied von Myosin, das unlöslich wird).

Schwefelsaure Magnesia von 10 % löst, bei 30—40° gesättigte Lösung fällt dagegen alles Vitellin (Unterschied von Albumin, das in Lösung bleibt).

Mässig concentrirte Lösungen von Chlorammonium, essigsaurem Natron, Brom- und Jodkalium, gelbem Blutlaugensalz und anderen Neutralsalzen lösen Vitellin auf.

Aus der Lösung in concentrirtem Kochsalz wird das Vitellin durch Zusatz von conc. Lösung von schwefelsaurem Natron nicht ausgefällt, erst bei der Sättigung der Kochsalzlösung mit schwefelsaurem Natron in fester Form scheidet sich ein schwacher Niederschlag aus (Fällung bei Eiweiss vollständig).

Gesättigte Lösung von schwefelsaurem Ammon fällt das Vitellin, beim Dialysiren über Wasser löst es sich nicht wieder auf.

Mit Essigsäure angesäuerte Kochsalzlösung wirkt fällend.

Monokaliumphosphat löst den in Wasser entstandenen Niederschlag nicht auf. (Unterschied von Albumin.)

Dikalium- oder Dinatriumphosphat lösen das Vitellin sehr leicht auf. Aus der Lösung kann man durch Zusatz von viel Wasser das Vitellin wieder ausfällen. Da K_2HPO_4 schwer vollständig rein zu erhalten ist, schlecht krystallisirt, ist die Anwendung von Na_2HPO_4 vorzuziehen. Längeres Verweilen in Phosphatlösungen, die entweder geringe Menge von freiem Kali oder von K_3PO_4 enthalten, führt das Vitellin leicht in Albuminate über. Leitet man einige Zeit Kohlensäure in die klare Lösung in Na_2HPO_4, so trübt sich dieselbe, es fällt ein feiner Niederschlag aus. Ein kleiner Ueberschuss von Na_2HPO_4 löst den durch Kohlensäure entstandenen Niederschlag wieder auf. Die Lösung des Kohlensäureniederschlages tritt schon ein, wenn die Flüssigkeit erst ganz schwach alkalisch oder fast neutral reagirt. Die Fällung durch CO_2 geht erst vor sich, wenn die Flüssigkeit sauer reagirt.

Trikaliumphosphat löst schon in geringer Menge den durch Wasser hervorgerufenen Niederschlag auf, das Vitellin wird in Albuminat übergeführt.

In sehr verdünnten Alkalien ist es leicht löslich; beim Stehen oder beim schnellen Erwärmen mit Aetzalkali geht Vitellin in Alkalialbuminat über.

Natriumcarbonat löst das Vitellin und verändert es in der Lösung allmählig zu Natriumalbuminat. Löst man frisch gefälltes Vitellin in sehr wenig 1procentiger Sodalösung, so trübt sich die Lösung in sehr kurzer Zeit, erneuter Zusatz von Soda löst wieder und abermals kann nach einiger Zeit Trübung eintreten, indem das Alkali von dem gebildeten Albuminat in Beschlag genommen wird. Aus 1% Na_2CO_3 wird es durch Wasser nur sehr unvollkommen gefällt, durch Kohlensäure reichlich.

Kalk- und Barytwasser lösen leicht und vollständig. Mit gebrannter **Magnesia** soll der in Wasser suspendirte Niederschlag in Lösung übergehen, ich fand jedoch die Richtigkeit dieser Reaction nicht bestätigt.

Kohlensäure begünstigt die Fällung in Wasser. In Kochsalzlösung entsteht nur eine schwache Trübung. Ausserordentlich verdünnte **Essigsäure** begünstigt die Fällung in Wasser, ebenso ruft sehr verdünnte Essigsäure in der Kochsalzlösung einen Niederschlag hervor. Im Ueberschuss der Säure löst sich der Niederschlag leicht auf, ebenso ist Vitellin in concentrirter Essigsäure leicht löslich (unter Acidalbuminbildung), die Lösung wird durch viel Wasser nicht wieder ausgefällt. Concentrirte Essigsäure löst auch den durch Erwärmen entstandenen Niederschlag auf.

In 10procentiger Kochsalzlösung ruft sehr verdünnte **Salzsäure** einen Niederschlag hervor, der desto besser hervortritt, je weniger concentrirt die Säure angewendet wurde. Die Lösung des Niederschlags erfolgt erst bei grossem Zusatz von concentrirter Salzsäure. Setzt man gleich zur Kochsalzlösung viel concentrirte Säure, so entsteht nur im ersten Moment ein Niederschlag, der sich gleich wieder löst, oder die Bildung eines Niederschlags unterbleibt ganz, der Salzsäureniederschlag löst sich beim Kochen

nicht auf. Frisch gefällte Globuline sollen nach Weyl in verdünnter Salzsäure (0,8%) löslich sein (?).

Schon durch verdünnte Salzsäure wird das Vitellin in Acidalbumin übergeführt.

Verdünnte Schwefelsäure oder geringer Zusatz von concentrirter Säure ruft Fällung hervor. Der Niederschlag löst sich im Ueberschuss des Fällungsmittels mit gelber Farbe.

Verdünnte Salpetersäure erzeugt einen Niederschlag, die Fällung ist eine vollständige. Concentrirte Säure erzeugt ebenfalls einen Niederschlag. Die Niederschläge lösen sich im Ueberschuss der Säure nicht auf, dagegen leicht bei Zusatz von Kali oder Ammoniak. Die orangerothe Färbung tritt erst bei stärkerer Concentration der Vitellinlösung ein.

Beim langsamen Erhitzen der Lösung des Vitellins in Kochsalz tritt bei circa 75° C. Coagulation ein. Erhitzt man neutrale Lösungen gleich anfangs rasch, so findet die Gerinnung bei circa 80° C. statt. Die Lösung in Kali coagulirt bei 100° C. nicht, der Niederschlag in Wasser löst sich beim Kochen nicht auf.

Alkohol absolutus fällt das Vitellin aus und führt es allmählig in coagulirtes Eiweiss über. Durch geringere Mengen von 50proc. Alkohol tritt keine Fällung ein, setzt man mehr hinzu, so wird das Vitellin gefällt. Die Fällung tritt auch ein, wenn man statt des Wassers zur Verdünnung des absoluten Alkohols eine 10procentige Kochsalzlösung verwendet; Vitellin wurde also durch den Alkohol abs., nicht durch das Verdünnen mit Wasser gefällt. Der frisch gefällte Alkoholniederschlag ist in überschüssiger Kochsalzlösung wieder löslich, bei Wasserzusatz natürlich nicht.

Bei nicht zu lange dauernder Aetherbehandlung bleibt das Vitellin in 10% Kochsalz leicht löslich. Aether gibt beim Schütteln keine Fällung. Vitellin ist sowohl bei Pepsin- als Trypsinbehandlung verdaubar.

Schwere Metalle (Cu, Sn, Pb) geben in Kochsalzlösungen amorphe Niederschläge.

Schwefelsaures Kupfer gibt einen weissen Niederschlag, der sich in ammoniakhaltigem Wasser sowie in verd. Alkali mit violetter Farbe löst. Eine Kupferlösung vermag den in Wasser entstandenen Niederschlag schon in der Kälte, noch besser in der Wärme aufzunehmen. Kochsalzlösung scheidet daraus die Kupferverbindung ab.

Bei der Behandlung mit verschiedenen Salzen schwerer Metalle, z. B. Eisenchlorid, Quecksilbernitrat, Platinchlorid, entstehen dem Acidalbumin nahe stehende Verbindungen.

Durch Ferrocyankaliumlösung, die mit Essigsäure versetzt wurde, entsteht ein Niederschlag.

Mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, liefert Vitellin Asparaginsäure.

Myosin.

Das Myosin entsteht bei der Todtenstarre aus der contractilen Substanz aller Muskeln. Es wird auch am leichtesten aus Muskeln dargestellt. Durch

Abpressen des bei —7° C. gefrorenen Muskels erhält man das ungeronnene Muskelplasma, das man in Wasser tropfen lässt. Jeder einzelne Tropfen bildet eine Kugel und die so erhaltenen feinen Gerinnsel lassen sich gut mit Wasser auswaschen. Ausserdem kann man das Myosin auch dem todten, starren Muskel durch 10—20 procentige Kochsalz- oder Chlorammoniumlösung entziehen. Das Nähere über die Darstellungsmethode bei Kühne, Untersuchungen über das Protoplasma, Danilewski, Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 5, p. 158, Hoppe-Seyler p. 274, Hofmann p. 73.

Zur Darstellung aus Pflanzen empfiehlt S. H. Vines[1]) Samen von *Lupinen* und *Paeonien*, denen das Myosin mit 10proc. Kochsalzlösung entzogen werden kann, um dann durch Eintragen von Kochsalzstücken bis zur Sättigung ausgefällt zu werden.

Das Myosin bildet schleimige, durchscheinende Flocken, die beim Schlagen jedoch keine Faden geben, wie das Fibrin.

Nach der Entfernung der lösenden Neutralsalze wird es bei der Dialyse gefällt.

Die Asche des reinen Myosins reagirt alkalisch, gibt an Wasser Kalkhydrat ab, es bleibt Calciumphosphat und Sulfat, sowie Magnesiumsulfat zurück. Danilewski fand im trockenen Muskelmyosin Ca 0,47, Mg 0,07, PO_4 0,30 %, so dass 0,30 % Ca ungesättigt blieben.

Statt der procentischen Zusammensetzung des Myosins, die ich nirgends angegeben fand, möge hier die des nahe verwandten Serumglobulins angegeben werden.

C.	52,71
H.	7,01
N.	15,85
S.	1,11
O.	23,32

In Wasser ist Myosin unlöslich. Längeres Stehen des Niederschlages unter Wasser macht ihn unlöslich in Chlorammonium, Kalkwasser, in sehr verdünnter Salzsäure quillt er nur mehr.

In Kochsalzlösungen von 5—10 % ist das Myosin leicht löslich, in hochconcentrirten und gesättigten Lösungen dagegen fällt es aus (Unterschied vom Vitellin). Serumglobulin ist in gesättigter Kochsalzlösung unlöslich, wird aber aus verdünnteren Lösungen durch Eintragen von Kochsalz nicht vollständig ausgefällt. Fibrinogen wird schon bei 16 % Kochsalzgehalt gefällt.

Verdünnte Lösung von schwefelsaurer Magnesia löst das Myosin, durch Sättigung mit diesem Salz fällt es vollständig aus.

Ueberschüssiges verdünntes Kali löst leicht, das Myosin wird bald in Albuminat übergeführt. Eine Lösung von Serumglobulin in Wasser mit

---

[1]) On the proteid substances contained in the seeds of plants. Journ. of physiol. Bd. 3, p. 93—114 und Maly's Jahresbericht über die Fortschritte der Thierchemie. Bd. 11.

möglichst wenig Natronlauge wird beim Hinzufügen sehr kleiner Mengen von Kochsalz, so dass die Lösung nur 0,03—0,07 % Kochsalz enthält, bei Zimmerwärme gefällt.

Kalkwasser löst, wenn es nicht zu verdünnt ist. Längere Zeit unter Wasser gestandener Myosinniederschlag ist in Kalkwasser unlöslich.

Das Myosin, in ausserordentlich wenig Salzsäure gelöst, wird bei der Neutralisation mit Natronlauge, Soda oder Kalkwasser gefällt.

Kohlensäure begünstigt das Ausfällen durch Wasser.

Sehr geringe Mengen von Essigsäure begünstigen die Ausfällung durch Wasser, etwas mehr Essigsäure löst das Myosin.

Sehr verdünnte Salzsäure wird vom Myosin absorbirt, ohne dass es in Syntonin (Acidalbumin) verwandelt wird. Etwas concentrirtere Salzsäure führt es in Syntonin über.

Es genügt schon die Hälfte der vom Myosin bindbaren Säuremenge, um dasselbe zu lösen. (Tropaeolin darf keine Säurereaction aufweisen.) (Vgl. Hoppe-Seyler pag. 56 und pag. 274.)

In Chlorammoniumlösung tritt bei 40—43° C. Trübung ein, bei 55° erscheint ein flockiger Niederschlag. In der Kochsalzlösung wird es ebenfalls durch Erhitzen coagulirt. (Serumglobulin coagulirt in 10 % Kochsalz bei 69—76° C.)

Alkohol absolutus fällt das Myosin, der Niederschlag ist kein eigentliches Myosin, sondern coagulirtes Eiweiss. Pflanzenmyosin büsst nur langsam seine Löslichkeit ein. In heissem 50procentigen Alkohol löst sich das Myosin, bei der Abkühlung wird die Flüssigkeit nicht getrübt.

Durch saure Pepsinlösung wird Myosin leicht und unvollständig, durch alkalische Trypsinlösung dagegen langsam in Pepton übergeführt.

Aus Syntonin kann das Myosin rückverwandelt werden. Löst man Syntonin in möglichst wenig Kalkwasser, trägt dann trockenes Salmiakpulver fast bis zur Sättigung ein, filtrirt durch Faltenfilter und neutralisirt die alkalische opalisirende dicke Lösung mit sehr verdünnter Essigsäure, bis violettes Lakmus keine alkalische Reaction mehr angibt, so bleibt die Flüssigkeit klar, schwach opalisirend und verhält sich in allen Reactionen wie eine Salmiaklösung von Myosin. Man kann es durch Eintragen von Kochsalz bis zur Sättigung oder durch sehr viel Wasser fällen.

Myosinlösungen in Kochsalz gerinnen nicht spontan, wohl aber das bei Kälte aus den Muskeln ausgepresste Myosin, wenn es Zimmertemperatur erreicht. Myosin zerlegt Wasserstoffsuperoxyd.

Es wird sowohl durch Essigsäure + Kochsalz als durch angesäuerte Ferrocyankaliumlösung gefällt.

Fibrin.

Es kann nicht meine Aufgabe sein, hier auf die Fibrinbildung[1]) im Blute einzugehen, es möge genügen hier anzuführen, dass das Fibrin sehr wahr-

[1]) Eine sehr übersichtliche Darstellung der schwebenden Controversen ist bei Hofmann pag. 304—319 zu finden.

scheinlich aus 2 verschiedenen Substanzen den Fibringeneratoren durch Vermittlung eines Fibrinfermentes sich bildet. Diese Fibringeneratoren sind erstens das Paraglobulin (identisch mit A. Schmidt's fibrinoplastischer Substanz, Brückes Paraglobin und Panum's Serumcasein, Hoppe-Seyler's Serumglobulin), zweitens das Fibrinogen. Es sind dies beides Stoffe, die Hoppe-Seyler zu seinen Globulinen rechnet. Das Produkt aus diesen ist das Fibrin, welches ganz specifische, von den Globulinen abweichende Eigenschaften aufweist, welche ich in Kürze hier wiedergeben will, um den Vergleich mit den pflanzlichen Proteinkörpern durchführen zu können.

Ueber die Darstellung des Fibrins vgl. Hofmann pag. 329.

Bei spontaner Gerinnung ist es eine durchsichtige Gallerte, welche sich von den Wänden des Gefässes loslöst, sich allmählig zusammenzieht und zu einer derberen, weissen, undurchsichtigen, plastischen Masse wird. Sehr rasch, fast augenblicklich faserig (daher der Name Faserstoff) scheidet es sich durch Schlagen oder starkes Verdünnen des Blutes mit Serum aus. Das mit Alkoholäther entwässerte Fibrin ist weiss und zerreiblich, das einfach an der Luft eingetrocknete ist hornartig, spröde, gelblich.

Das Fibrin enthält

	Nach Hammarsten (mit älteren Autoren übereinstimmend)	Nach C. B. Hofmann im Mittel
C.	52,68 %	52,5 %
H.	6,83	7,0
N.	16,91	17,4
S.	1,10	1,2
O.	22,48	21,9

Es ist unlöslich in Wasser.

In verdünnter Kochsalzlösung (3 %) ist das Fibrin unlöslich, bei 6—10 % quillt es zu einer schleimigen Masse auf unter partieller Lösung, bei 10° C. in 1—2 Tagen, bei 40° C. in 1—2 Stunden. Es verhalten sich die Fibrine verschiedener Thiere nicht ganz gleich, und so gibt z. B. Gautier[1]) an, dass Fibrin in 10 % Kochsalz löslich ist.

Das Verhalten in schwefelsaurem Natron gleicht dem in Kochsalz.

In verdünnter Kalilauge, ebenso in Ammoniak, quillt das Fibrin sehr stark auf, löst sich langsam unter Bildung von Alkalialbuminat. Erwärmen beschleunigt die Lösung.

In verdünnter Essigsäure quillt es stark auf, ohne sich zu lösen, erst wenn Syntonin gebildet ist, löst es sich. Die Fibringallerte, mit concentrirter Essigsäure versetzt, schrumpft nicht.

Aus der Lösung in Kochsalz oder Natriumsulfat wird es durch verdünnte Essigsäure gefällt.

Sehr verdünnte Salzsäure bringt das Fibrin zum starken Quellen, jedoch ohne zu lösen. Eine 1—5procentige Säure verwandelt es in eine

[1]) Compt. rend. T. 79, p. 228.

durchsichtige Gallerte, die durch Entfernung der Säure das ursprüngliche Ansehen wieder annimmt. Fügt man concentrirte Säure hinzu, so tritt Schrumpfung ein.

Salzsäure von 0,1 % verwandelt Fibrin bei 20° C. binnen einigen Tagen, bei 60° C. ziemlich rasch in Syntonin.

Schwefelsäure und Salpetersäure verwandeln in wenig concentrirtem Zustande das Fibrin in eine Gallerte, bei stärkerer Concentration schrumpft es. In concentrirter Phosphorsäure tritt keine Schrumpfung ein.

Beim Erwärmen auf 75° coagulirt das Fibrin.

Durch Alkohol wird das Fibrin ebenfalls coagulirt, es wird weisslich, undurchsichtig, brüchiger und nach längerer Einwirkung weniger leicht löslich in Verdauungsflüssigkeiten. Aus seinen Lösungen in Kochsalz und Natriumsulfat wird es durch Alkohol gefällt.

Anhaltende Behandlung mit Aether hat auf die charakteristischen Eigenschaften des Fibrins keinen Einfluss.

In frisch gefälltem Zustande ist es durch Pepsin und Trypsin leicht verdaubar, schwieriger nach Alkoholbehandlung. Es reisst begierig in Lösung befindliches Pepton an sich. Durch Trypsin wird es weiter zerlegt, es zerfällt zum Theil in Leucin, Tyrosin, Indol, Skatol u. s. w., zum Theil wird es in Pepton übergeführt.

Frisches feuchtes Fibrin zerlegt lebhaft Wasserstoffsuperoxyd. Unter Alkohol aufbewahrt, oder auf 72° erwärmt, verliert es diese Eigenschaft.

Mucin.

Das Mucin wird aus Galle oder Speicheldrüsen gewonnen. Es ist eine schleimige, fadenziehende Flüssigkeit, die in neutralen Salzlösungen durch Essigsäure nicht gefällt wird. Bei Abwesenheit neutraler Salze ist es unlöslich in Essigsäure und wird auch durch einen stärkeren Säureüberschuss nicht gelöst. Es löst sich in Kalkwasser, Aetzalkali, Alkalicarbonat und wird aus diesen Lösungen durch Essigsäure gefällt. Bei längerem Verweilen, schneller beim Erwärmen, geht es in Alkalialbuminat über. Beim Kochen von Mucin mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure erhält man Acidalbumin.

Es ist ausgezeichnet durch seinen relativ hohen Wasserstoff- und geringen Stickstoffgehalt. Es enthält nach Landwehr

C. 53,09 %
H. 7,60
N. 13,80
S. 1,10
O. 24,41

Diese Hoppe-Seylers Handbuch entnommenen Daten genügen wohl nicht zur Charakteristik dieses Stoffes.

Coagulirte Albuminstoffe.

Beim Erwärmen oder bei länger andauernder Einwirkung von Alkohol werden die verschiedenen Albuminstoffe in eine unlösliche Form übergeführt.

Hiervon sind die Albuminate und Acidalbumine, Albumosen und die Peptone ausgenommen, die von der Umwandlung der übrigen Albuminstoffe herrühren und sich besonders durch ihr Nichtcoaguliren beim Erwärmen auszeichnen, während sehr langandauernde Alkoholwirkung theilweise auch diese Stoffe unlöslich macht. Manche Stoffe, wie z. B. Eieralbumin können auch durch concentrirte Salzsäure in den coagulirten Zustand übergeführt werden. Die aus ihren Lösungen beim Neutralisiren ausgeschiedenen Albuminate, sowie das Casein, scheinen beim Erhitzen in coagulirte Albuminstoffe überzugehen.

Die Coagulationsproducte der verschiedenen Eiweissstoffe sind durch ihre Löslichkeitsverhältnisse nicht näher zu unterscheiden, obwohl sehr wahrscheinlich Differenzen bei der chemischen Zusammensetzung bestehen.

Coagulirtes Eiweiss ist in allen indifferenten Lösungsmitteln, sowie in Lösungen neutraler Alkalisalze und sehr verdünnter Salzsäure unlöslich. In verdünnten Alkalilaugen löst es sich schwer, in Ammoniak sehr schwer und fällt aus dieser Lösung beim Erwärmen unter Entweichen von Ammoniak wieder aus. In Essigsäure quillt es und löst sich allmählig, wird aber durch concentrirte Salzlösungen wieder abgeschieden. Durch stärkere Kali- und Säurewirkung, namentlich beim Erwärmen, geht es in Alkalialbuminat resp. in Acidalbumin über, zum Theil entstehen auch peptonartige Derivate. Verdauungsfermente wandeln es nur langsam um.

Amyloid.

Dieser auch im Thierreich nur sehr selten vorkommende Eiweissstoff ist bisher im Pflanzenreich noch nirgends nachgewiesen worden, was bei seiner Eigenschaft, sich mit Jod braunroth bis violett zu färben, nicht hätte schwer fallen müssen. Ich will demselben daher keine weitere Berücksichtigung schenken. Seine Eigenschaften vgl. Hoppe-Seyler p. 280 und Hofmann p. 239.

Acidalbumin (Syntonin).

Wir haben schon bei den Albuminen und Globulinen darauf hingewiesen, dass bei der Behandlung dieser Stoffe mit Säuren eine Umwandlung vor sich geht, welche zu der Bildung dieser Acidverbindungen führt. Eine analoge Umwandlung finden wir bei der Einwirkung von Kali, wodurch die Kalialbuminate entstehen. Acidalbumin und Kalialbuminat stehen sich in ihren Eigenschaften und Reactionen sehr nahe, die eine Verbindung kann leicht in die andere übergeführt werden. Trotzdem ist es möglich, dieselben durch einzelne Reactionen zu unterscheiden, worüber K. A. H. Mörner[1]) nähere Untersuchungen angestellt hat.

Die aus verschiedenen Eiweissstoffen durch die Säure gebildeten Acid-

[1]) Archiv f. die gesammte Physiologie. Bd. 12, p. 347 und Maly's Jahresbericht. Bd. 7, p. 9—17.

verbindungen scheinen nicht vollständig identisch zu sein, wenn sie auch in den meisten Reactionen mit einander übereinstimmen. Sie unterscheiden sich in der Menge von Ammoniak, welche beim Kochen mit gesättigter Aetzbarytlösung entwickelt wird, in den spec. Drehungen, in der procentischen Zusammensetzung, besonders im Stickstoffgehalt und ausserdem durch die Form der Niederschlagsbildung beim Neutralisiren der Lösung.

Hoppe-Seyler unterscheidet speciell Syntonin von Acidalbumin. Das erstere entsteht aus Myosin oder Muskelsubstanz und kann durch die Behandlung mit Kalkmilch und Salmiak wieder in Myosin zurück verwandelt werden, während die Acidalbumine, aus den anderen Eiweissstoffen gebildet, bei der gleichen Behandlung kein Myosin geben.

K. B. Hofmann bezeichnet als Acidalbumine die Umwandlungsprodukte durch Essigsäure, als Syntonine die durch Salzsäure entstandenen Verbindungen.

Die Acidalbumine sind identisch mit Rollets Albuminid und Meissners Parapepton.

Im Folgenden werde ich ohne Rücksicht auf die feineren Unterschiede nur von Acidalbuminen sprechen. Dieselben bilden sich:

1) Bei der Einwirkung von sehr verdünnten Mineralsäuren auf Albumine und Globuline. Setzt man die Säure allmählig zu, oder lässt man einen mit Albuminlösung beschickten Dialysator auf Säure schwimmen, so gesteht das Acidalbumin in Form von durchscheinenden Gallerten. Rollet[1]) erhielt derartige Gallerten bei der Einwirkung von Schwefelsäure von 1,0067 sp. Gew., Salzsäure (1,0065 sp. Gew.), Salpetersäure (1,0066 sp. Gew.), Phosphorsäure 1,0103 sp. Gew.).
2) Durch saure Pepsinlösung, welche man auf native oder coagulirte Eiweissstoffe und Fibrin wirken lässt.
3) Bei der Einwirkung concentrirter Salzsäure, Salpetersäure und Schwefelsäure auf Eiweisskörper. Ebenso wird Chondrin und Blutfarbstoff durch diese starken Säuren in Acidalbumin umgewandelt. Auf dieser Bildungsweise beruht die bei Hofmann[2]) angegebene Darstellungsmethode des Acidalbumins. Man digerirt Eieralbumin oder löst Serumeiweiss in rauchender Salzsäure, lässt stehen bis die Lösung blau gefärbt ist, filtrirt und verdünnt mit dem doppelten Volum Wasser. Der Niederschlag wird gesammelt, in Wasser gelöst und diese Lösung vorsichtig mit Natriumcarbonat neutralisirt. Der gallertig-flockige Niederschlag wird mit Wasser bis zum Verschwinden der Salzsäurereaction gewaschen.
4) Bei der Behandlung der Albumine und Globuline mit verschiedenen Salzen schwerer Metalle z. B. Eisenchlorid, Quecksilbernitrat, Platinchlorid.
5) Durch concentrirtere Essigsäure, wenn man Eiweissstoffe mit derselben in Berührung bringt; Erwärmen begünstigt die Umwandlung. Setzt

[1]) Sitzungsber. der Wiener Academie. Bd. 84, Abth. 3. 1881. p. 332—380.
[2]) l. c. p. 630.



man vor dem Erwärmen noch etwas Salzsäure zu, so lässt sich die entstehende Lösung leicht filtriren. Aus dem Filtrat wird das Acidalbumin durch Zusatz von kohlensaurem Kali bis zur ganz schwachsauren Reaction ausgefällt und mit destillirtem Wasser gewaschen.

Je nach der Bildungsweise der Concentration von Säure und Eiweissstoff erscheint das Acidalbumin in verschiedener Form, als Lösung, Gallerte oder flockiger Niederschlag. Ausserdem scheint noch die Menge der vorhandenen Salze, sowie die Substanz, von welcher man ausgeht, nicht ohne Einfluss auf das Aussehen und den Aggregatzustand des Acidalbumins zu sein.

Die procentische Zusammensetzung des Muskelsyntonins ist

C.	54,1 %
H.	7,3
N.	16,1
S.	1,1
O.	21,5

Die Lösung in verdünnter Salzsäure hat die specifische Drehung $(\alpha)_D =$ — 72° (unabhängig vom Concentrationsgrad der Lösung ?).

In Wasser ist Acidalbumin unlöslich, nach längerem Stehen unter Wasser wird es auch unlöslich in sehr verdünnter Salzsäure.

Kochsalzlösung verschiedener Concentration (auch 10 %) löst nicht oder doch nur in ganz minimaler Menge; aus sauren Lösungen werden die Acidalbumine durch Sättigung mit Kochsalz vollständig ausgefällt.

Die sauren Lösungen werden ausserdem durch Eintragen von Ammoniumchlorid, schwefelsaurem Natrium und schwefelsaurer Magnesia gefällt, desgleichen schlägt concentrirtes Natriumacetat das Syntonin aus saurer Lösung nieder.

Durch sehr kleine Mengen von Calciumchlorid und Baryumchlorid werden die Acidalbumine gefällt, lösen sich im Ueberschuss des Fällungsmittels wieder auf.

In Trikaliumphosphat und in Dinatriumphosphat ist Acidalbumin löslich, in Monokaliumphosphat dagegen unlöslich. Das Dinatriumphosphat löst in sehr verdünntem Zustand die Essigsäuregallerte (vgl. Darstellung No. 5, pag. 212) nur sehr wenig oder gar nicht, erst bei stärkerer Concentration wirkt sie lösend. Die alkalische Lösung wird bei Gegenwart von Alkaliphosphaten durch Säurezusatz erst gefällt, wenn das sich bildende saure Phosphat (Monophosphat) dem Molekül nach das neunfache des noch vorhandenen neutralen Phosphates (Diphosphat) beträgt. Fügt man darüber noch eine geringe Menge von Säure hinzu, so erfolgt der Niederschlag. Das Acidalbumin wird demnach gefällt, noch bevor sämmtliches Dinatriumphosphat in das Monophosphat übergeführt ist (Unterschied von Alkalialbuminat). In Soda gelöst, wird das Syntonin bei Gegenwart von Dinatriumphosphat durch das Monophosphat leichter gefällt als das Alkalialbuminat. In Monophosphat mit wenig Diphosphat gemengt, ist das Acidalbumin nicht löslich.

Durch Kalilauge und Alkalicarbonat wird das Acidalbumin leicht gelöst und nach einiger Zeit in Alkalialbuminat übergeführt. Das Carbonat ruft diese Umwandlung langsamer und erst in der Wärme hervor. Alkalialbuminat wird durch Säure nicht wieder in Syntonin zurückverwandelt.

Natriumhydrat, Natriummono- und Bicarbonat, Lithiumcarbonat lösen das Acidalbumin etwas schwieriger als das Kalialbuminat.

Kalk- und Barytwasser lösen, nach meinen Erfahrungen, an Essigsäurealbumin nur sehr schwer. Frisch gefällter Niederschlag löst sich leichter auf, diese Lösung in Kalkwasser schäumt beim Kochen.

Aus Calcium-, Strontium-, Baryumcarbonat soll Acidalbumin keine Kohlensäure austreiben (vgl. Alkalialbuminat).

Beim Neutralisiren alkalischer Lösungen fällt das Acidalbumin vollständig aus, die Niederschläge sind gallertig (bei den Albuminaten dagegen nicht gallertig).

Kohlensäure fällt Acidalbumin leichter als das Albuminat, sie fällt auch bei Gegenwart von Dinatriumphosphat.

Acidalbumin durch Essigsäure erhalten bildet, wenn über 8% wasserfreie Säure auf 1% wasserfreies Albumin angewendet wird, eine bei gewisser Temperatur dünnflüssige, mehr erwärmt ganz schmelzende Masse, die beim Erkalten wieder gelatinirt. Der Schmelzpunkt ist aber um so niedriger, je mehr Säure verwendet wurde. Sehr säurearme Gelatinen schmelzen nicht, sondern coaguliren, wenn sie bis zu 75—85° C. erhitzt werden. Verdünnte Essigsäure löst ohne Gallertbildung. Aus alkalischen Lösungen wird das Acidalbumin durch Essigsäure (und auch durch Salzsäure) schon bei alkalischer Reaction gefällt (vgl. Albuminat).

In Salzsäure verhalten sich die durch Fällung aus alkalischer Lösung erhaltenen Niederschläge und die durch Dialyse erhaltenen Gallerten nicht vollständig gleich. Frisch gefällt wird das Acidalbumin leicht in sehr verdünnter Salzsäure gelöst, concentrirtere Salzsäure löst langsamer unter Bildung einer glasigen Gallerte. Aus dieser Lösung wird das Acidalbumin durch Wasserzusatz nicht gefällt. Die durch Dialyse auf Säure erhaltenen Gallerte verhält sich folgendermaassen:

In Wasser	— stark quellend.
- Salzsäure von 0,1—1%	— weniger quellend.
- - - 2,5%	— nahezu unverändert bleibend.
- - - 5—20%	— schrumpfend.
- - - 22,4% und concentrirter	— erfolgt Lösung unter Abschmelzen der Kanten.

In verdünnter Schwefelsäure löst sich das Acidalbumin bei gewöhnlicher Temperatur nur langsam, beim Erwärmen jedoch schnell. Concentrirte Schwefelsäure löst leicht unter Braunfärbung und Bildung eines fluorescirenden Farbstoffes. Bei Wasserzusatz entsteht ein weisser Niederschlag.

Verdünnte und concentrirte Salpetersäure löst in der Kälte nicht, die Niederschlagsflocken färben sich binnen Kurzem gelb. Beim Erwärmen

löst die concentrirte Säure das Acidalbumin leicht auf, durch Zusatz von Wasser entsteht eine Trübung.

Beim Erwärmen in Wasser löst sich die Acidalbumingallerte auf, ohne beim Erkalten wieder zu gestehen. Eine Lösung in möglichst wenig Kali oder in kohlensaurem Natron gerinnt beim Erwärmen nicht, auch wenn sie im zugeschmolzenen Rohre über 100° erhitzt wird. Die Lösung des Syntonins in Kalkwasser coagulirt beim Kochen theilweise.

Alkohol fällt das Acidalbumin leichter als das Alkalialbuminat. Die Lösungen in 0,1 % Salzsäure werden schwierig gefällt. Nicht zu concentrirte salzfreie, alkalische Acidalbuminlösung wird durch Alkohol nicht gefällt.

Acidalbumine werden sowohl durch Pepsin als durch Trypsin leicht verdaut.

Ich erwähnte schon oben, dass das Syntonin beim Stehen unter Wasser eine Veränderung erleidet, so dass es sich in sehr verdünnter Salzsäure nicht mehr löst. Durch Erwärmen mit 1 procentiger Natronlauge wird es wieder in Syntonin verwandelt. Durch Lösen in Kalkwasser, nachherigen Zusatz von Chlorammonium fast bis zur Sättigung der Lösung und sehr schwaches Ansäuern mit Essigsäure geht es in Myosin oder eine dem Myosin sehr ähnliche Globulinsubstanz über.

Alkalialbuminat.

Alkalialbuminate bilden sich bei der Einwirkung von Kali auf die Eiweissstoffe (Pepton ausgenommen). Sie weichen von den Caseinen in keiner wesentlichen Eigenschaft ab, nur dass sie durch das Lab des Kälbermagens nicht zum Coaguliren gebracht werden. In ihren Eigenschaften stehen sie auch den Acidalbuminen sehr nahe (vgl. diese).

Die Darstellung (vgl. Hofmann pag. 628) geschieht durch Eintropfen von concentrirter Kalilauge in Hühnereiweiss, das von seinen Häuten befreit ist, es bildet sich eine Gallerte, die in Stücke geschnitten, auf dem Leinenfilter mit Wasser zu waschen ist, dann in kochendem Wasser gelöst wird. Aus dieser Lösung fällt man das Albuminat durch verdünnte Essigsäure. Ebenso erhält man Alkalialbuminatgallerten beim Dialysiren von gelösten Eiweissstoffen über verdünnter Kalilauge. Rollet schlägt für diese Körper den Namen Albuminin vor.

Das Alkalialbuminat ist aufgefasst worden als zweibasische Säure mit der Formel

$C_{72} H_{112} N_{18} O_{23} SR_2$ (worin R = ein Aequivalent Metall).

Es besitzt folgende Zusammensetzung:

C.	53,59 %
H.	6,95
N.	15,63
S.	1,99
O.	21,84

Durch die Behandlung von Eiweissstoffen mit Kali findet eine Steigerung ihrer spec. Rotation statt, bei Serumalbumin auf — 86°, Eieralbumin auf — 47°, coagulirtes Eieralbumin auf — 58,8° für gelbes Licht.

In Wasser ist Alkalialbuminat etwas löslich, bei Abwesenheit von überschüssigem Alkali jedoch nur sehr wenig. Trockene Albuminate sind unlöslich, quellen jedoch auf.

Durch Neutralsalze geringerer Concentration z. B. 10 proc. Kochsalzlösung wird das Albuminat nicht mehr als in Wasser gelöst.

Nicht zu concentrirte Lösungen von Calcium-, Ammonium-, Natriumchlorid, schwefelsaurer Magnesia lassen die alkalische Albuminatlösung in der Kälte unverändert, beim Kochen erfolgt flockige Ausscheidung.

Werden Kochsalz oder schwefelsaure Magnesia in fester Form zu einer sehr schwach alkalischen oder sauren Albuminatlösung gebracht, so scheiden sich schon in der Kälte Flocken ab.

Schwefelsaures Natron bis zur Sättigung zu einer schwach alkalischen Lösung gesetzt, bewirkt höchstens Trübung, erst beim Erwärmen erfolgt flockige Ausscheidung.

Ebenso fällt Ammoniumchlorid im Ueberschuss nicht oder nur sehr unvollständig.

Verhalten gegen Calcium- und Baryumchlorid wie bei Acidalbumin.

Trikaliumphosphat löst vollständig, ebenso Dikalium- und Dinatriumphosphat, wenn es nicht zu verdünnt ist; Monokaliumphosphat löst weder verdünnt noch concentrirt, auch bei längerer Einwirkung nicht. Bei Gegenwart von Dinatriumphosphat wird das Albuminat von Säuren bei Temperaturen unter 35—40° C. nur dann gefällt, wenn alles Dinatriumphosphat in Mononatriumphosphat übergeführt ist und noch ein kleiner Ueberschuss von Säuren vorhanden ist. Es kann also die albuminathaltige Flüssigkeit sauer reagiren, ohne dass das Albuminat gefällt wird. (Vgl. Acidalbumin.)

In Soda gelöst wird das Alkalialbuminat bei Gegenwart von Dinatriumphosphat durch das einbasische Phosphat nur schwierig gefällt.

Durch Sättigung mit Dinatriumphosphat wird das Albuminat nicht gefällt.

Verdünnte Kali- oder Natronlauge, Natriummono- und bicarbonat oder Lithiumcarbonat lösen frischgefällte Niederschläge leicht auf, etwas schwerer die längere Zeit unter Wasser gestandenen oder erwärmten Niederschläge.

Concentrirte Alkalien können das Albuminat in coagulirtes Albumin überführen, es entsteht eine durchsichtige Gallerte. Aus der Lösung in Kalilauge wird das Albuminat durch viel Wasser nicht ausgefällt.

Kalk- und Barytwasser lösen den Albuminatniederschlag auf, die Lösung wird durch Erwärmen beschleunigt. Ist Kalkwasser nicht im Ueberschuss zugesetzt, so soll die Lösung sauer reagiren (?).

Albuminate treiben aus Calcium-, Strontium-, Magnesiumcarbonat die Kohlensäure aus und lösen sich in Verbindung mit diesen Metallen. Die vom Alkalialbuminate gebundene Kalkmenge beträgt 1,6—1,7 %

Beim Neutralisiren fällt das Albuminat aus, der Niederschlag ist nicht gallertig. Die Lösung in Kali wird bei vollständig neutraler und auch bei sehr schwach saurer Reaction noch nicht niedergeschlagen, sondern bleibt noch gelöst, und erst bei stärker saurer Reaction entsteht der Niederschlag.

Kohlensäure fällt das Albuminat aus der Lösung von Dinatriumphosphat.

In verdünnter Essigsäure wird das frisch gefällte Albuminat gelöst, ohne dass vorher eine Gallerte entsteht; in concentrirter Essigsäure wird der Niederschlag zuerst gallertig, löst sich sodann auf. Erwärmen beschleunigt die Auflösung.

In verdünnter Salzsäure (0,1—1 %) ist der frisch gefällte Niederschlag leicht löslich, durch 10 procentige Salzsäure entsteht ein bleibender Niederschlag, der sich bei Wasserzusatz wieder löst. Rauchende Salzsäure gibt einen im Ueberschuss der Säure löslichen Niederschlag. Erwärmen begünstigt die Lösung. Durch Dialyse erhaltene Albuminatgallerten quellen in 1 % Salzsäure auf, schrumpfen in mässig concentrirter Salzsäure, in hochconcentrirter Säure schrumpfen sie anfangs, werden dann glasigdurchsichtig.

Verhalten gegen Schwefelsäure und Salpetersäure wie bei dem Acidalbumin. Die Niederschläge in Salpetersäure sind in Kali nur schwer löslich, man kann daher die Xanthoproteinreaction an den Niederschlagsflocken sehr schön verfolgen.

In kochendem Wasser sind die Albuminate leicht löslich.

Möglichst alkaliarme Lösung im zugeschmolzenen Rohre über 100° erhitzt, coagulirt. Hat man zu einer alkalischen Albuminatlösung so viel Säure zugesetzt, dass das Albuminat nur eben wieder in Lösung gegangen ist, so entsteht beim Kochen dieser Lösung ein flockiger Niederschlag, hat man mehr Säure zugesetzt, so bleibt die Lösung beim Kochen klar.

In Alkohol ist das Albuminat etwas löslich, concentrirtere Albuminatlösungen trüben sich bei Zusatz von Alkohol, lösen sich jedoch beim Erwärmen wieder auf. Ebenso wird die Lösung in 0,1 % Salzsäure nur schwierig gefällt. Die Albuminate sind durch Alkohol schwieriger fällbar als die Acidalbumine.

Durch Schütteln mit Aether trüben sich Albuminatlösungen.

Pepsin und Trypsin führen die Albuminate sehr schnell in Peptone über.

Casein.

Bei der Verwandtschaft der Caseine mit den Alkalialbuminaten, wird es genügen, an dieser Stelle auf die Reactionen des letzteren zu verweisen und nur einige specielle Eigenschaften hervorzuheben. Ueber einige fragliche Unterschiede der beiden Stoffe siehe Hofmann p. 668.

Das Casein kann durch Sättigung mit schwefelsaurer Magnesia gewonnen werden oder indem man die auf das 20 fache verdünnte Kuhmilch mit wenig Essigsäure versetzt und dann durch Einleiten von Kohlensäure die Fällung vervollständigt. (Hoppe-Seylers Methode.) Neuerdings ist von J. Frenzel

und Th. Weyl[1]) die Fällung mit Schwefelsäure von 1‰ (d. h. Säure, welche 1 cbcm reine conc. Schwefelsäure von 1,84 sp. Gew. auf 1 Liter destillirtes Wasser enthält) empfohlen worden.

Durch wiederholtes Auflösen des Niederschlags im kohlensauren Natron und Fällen mit Essigsäure und durch Waschen mit Wasser, Alkohol und Aether ist das Casein zu reinigen. Es enthält jedoch noch immer Nuclein, welches aus den desorganisirten Kernen der Milchdrüsen stammt.

Die procentische Zusammensetzung des Caseins ist folgende:

	Menschliche Milch.	Kuhmilch.
C.	52,35 %	53,62 %
H.	7,27	7,42
N.	14,65	14,20
S + O	25,73	24,76

Die spec. Drehung ist je nach dem Lösungsmittel verschieden. In schwach alkalischer Lösung beträgt $(\alpha)_D = -76°$, in sehr verdünnter Lösung $-87°$, in stark alkalischer $-91°$.

Verhalten gegen Wasser und Neutralsalze wie Alkalialbuminat. Lässt man das mit Säure gefällte Casein unter Wasser stehen, wird es derartig verändert, dass es mit Lab nicht mehr gerinnt.

Da das Casein wie die Albuminate in verdünnter Salzsäure leichter löslich ist als in Essigsäure, so wird es aus der salzsauren Lösung durch Natriumacetat ausgefällt.

Das Verhalten gegen freies Alkali und gegen Alkalicarbonate wie bei den Albuminaten. Starke Kalilauge verändert das Casein, so dass es mit Lab nicht mehr gerinnt. Hochconcentrirte Alkalien zerlegen es unter Abscheidung von Schwefelwasserstoff.

Baryt- und Kalkwasser lösen es leicht auf. Aus kohlensaurem Kalk wird die Kohlensäure ausgetrieben, indem sich das Casein mit Calcium verbindet. Eine Lösung von Casein in Kalkwasser kann durch Phosphorsäure zu einer milchigen, keinen Niederschlag absetzenden Flüssigkeit neutralisirt werden, es scheint sich Casein dabei mit Calciumphosphat zu verbinden.

Beim Neutralisiren fällt Casein aus. Bei Gegenwart von Phosphaten sowie bei der Lösung in kohlensaurem Natron, Kalk- oder Barytwasser, wenn Natriumchlorid oder Kaliumchlorid vorhanden ist, muss die Flüssigkeit sauer reagiren, bevor die Fällung durch Essigsäure eintritt.

Kohlensäure vermag den Kalk in einer Caseinlösung nicht zu fällen.

Verdünnte Essigsäure fällt das Casein, concentrirte löst es langsam auf.

Salzsäure fällt das Casein aus der alkalischen Lösung, ein Ueberschuss der Säure löst es wieder auf.

Concentrirte Mineralsäuren verändern das Casein, so dass es mit Lab nicht mehr gerinnt.

Beim Erwärmen gerinnt weder die saure noch die alkalische Lösung. Durch Hitze wird gefälltes Casein in coagulirtes Albumin übergeführt.

[1]) Zeitschrift f. physiologische Chemie. Bd. 9. 1885. p. 246.

In Alkohol ist Casein bei gewöhnlicher Temperatur etwas, beim Erwärmen leichter löslich.

Die Behandlung mit Aether macht es nicht unlöslich in Wasser.

Bei der Pepsinverdauung bleibt ein Rest zurück, welcher der Beimengung von Nuclein entspricht, das Casein selbst ist leicht verdaubar.

Kuhmilch in Kalkwasser gelöst, die Lösung mit Phosphorsäure neutralisirt oder angesäuert, wird durch Lab zum Gerinnen gebracht. Ein Gramm Lab vermag 30 Liter Milch zu verwandeln. Das entstandene Coagulationsprodukt ist sog. Käse, ein Albuminstoff, der sich von dem Casein durch verschiedene Reactionen unterscheidet. Die näheren Angaben hierüber bei Hofmann p. 669.

Das Casein wird durch Ferrocyankaliumlösung, welche mit Essigsäure angesäuert wurde, gefällt.

Durch schwefelsaures Kupfer wird das Casein aus völlig neutralisirter Flüssigkeit vollständig und ohne Aenderung seiner Zusammensetzung niedergeschlagen. Platincyankalium fällt aus sauren Lösungen einen compakten Niederschlag, der sich allmählig zusammenzieht.

Albumose (Hemialbumose Hoppe-Seylers).

Mit diesem Namen bezeichnet man Uebergangsprodukte, welche bei der Verdauung der Eiweisskörper entstehen, bevor dieselben vollständig in Pepton übergeführt werden. Zu denselben gehören die Hemialbumose Hoppe-Seylers, das Propepton Schmidt-Mühlheims, das α-Pepton von Meissner.

In neuerer Zeit ist durch die Arbeiten von W. Kühne und R. H. Chittenden[1]) festgestellt worden, dass in den Eiweissstoffen zwei verschiedene Gruppen vorkommen, welche sich hauptsächlich durch das verschiedene Verhalten gegen Pepsin und Trypsin unterscheiden. Die Anti-Gruppe besteht aus Stoffen, welche bei langandauernder Wirkung dem Trypsin widerstehen, durch Trypsin also auch bis zu dem Antipepton verdaut werden, durch Fermentwirkung aber nicht weiter in Leucin, Tyrosin zu zerlegen sind, welche Stoffe aber durch Sieden mit stärkeren Säuren sehr leicht zu erzielen sind.

Die Hemigruppe dagegen widersteht der Trypsinverdauung viel weniger, indem das auch bei der Pepsinverdauung erhaltene Hemipepton durch Trypsin weiter in Leucin und Tyrosin zerlegt wird.

Zu einer analogen Auffassung ist Schützenberger gelangt, indem er die Zersetzungsprodukte von coagulirtem Eiweiss durch siedende Säuren studirte. Das coagulirte Eiweiss ist zur einen Hälfte sehr resistent gegen siedende Schwefelsäure, zur anderen Hälfte bei dieser Behandlung löslich. Wird feuchtes coagulirtes Eieralbumin (entsprechend 5 Th. Trockensubstanz) mit 1 Theil Schwefelsäure (spec. Gew. 1,842) und 40 Theilen Wasser 1½ Stunden im Wasserbade erhitzt und die Wassermenge constant erhalten, so

[1]) Ueber die nächsten Spaltungsprodukte der Eiweisskörper, Zeitschrift für Biologie von Kühne und Voit. Bd. 19, Neue Folge Bd. 1, 1883. p. 159—208.

scheidet sich beim Stehen ein amorpher, der frisch gefällten Kieselsäure ähnlichsehender Bodensatz ab, welchen Körper Schützenberger als Hemiprotein bezeichnete. Die vom Hemiprotein abfiltrirte Flüssigkeit enthält verschiedene Stoffe, darunter Schützenbergers Hemialbumin.

Kühne und Chittenden bezeichnen nun das Hemiprotein als Antialbumid, weil man daraus durch Trypsinverdauung das Antipepton erhält.

Das Antialbumid ist ein Stoff, der erst durch die Säurewirkung, nicht aber bei der normalen Verdauung des Eiweisscoagulates durch Fermente entsteht, was schon daraus hervorgeht, dass coagulirtes Eiweiss durch Pepsin vollständig verdaut wird, das Antialbumid jedoch durch Pepsin nicht angegriffen wird.

Das Antipepton kann demnach erstens durch Vermittlung der Schwefelsäurewirkung, dann aber auch durch fractionirte Pepsinverdauung gewonnen werden. Im letzteren Falle tritt ein Uebergangsproduct auf, welches von Kühne und Chittenden als Antialbumose bezeichnet wird.

Dem Antipepton und der Antialbumose entsprechen die zwei Körper der Hemigruppe, die Hemialbumose[1]) und das Hemipepton. Für die Gewinnung dieser Körper eignet sich die Spaltung durch siedende Schwefelsäure nur wenig, insofern die Hemikörper zwar wirklich entstehen und neben dem Antialbumid in der Lösung leicht nachzuweisen sind, jeweils aber nur in geringer Menge auftreten, da sie schnell weiter zerfallen. Die Stoffe der Hemigruppe werden daher besser durch bestimmt regulirte Pepsinverdauung gewonnen, worüber in der Arbeit von Kühne und Chittenden (p. 173 und 184) das Nähere nachzusehen ist.

Durch verschiedene Behandlungsweisen von Eiweisskörpern und deren Zersetzungsproducten kann man schliesslich zu Eiweisskörpern gelangen, welche durch Pepsin-Salzsäure nicht peptonisirbar, aus saurer Lösung durch Neutralisation fällbar sind, und den von Meissner gefundenen Parapeptonen sehr nahe stehen. Es kann dies nach Kühne und Chittenden[2]) auf folgende Weise geschehen: 1) aus den Antialbumiden, wenn man dieselben in Soda löst, wodurch sie zugleich für Salzsäure von 2 und 4‰ löslich werden; 2) durch längere Digestion der Fibrins, z. B. mit Salzsäure

---

[1]) Kühne und Chittenden haben ausserdem noch 4 verschiedene Hemialbumosen unterschieden (Zeitschrift für Biologie, herausgegeben von Kühne und Voit Bd. 20. 1884. p. 12). Ich will dieselben hier anführen, wenngleich ihre Erkennung an mikroskopischen Objecten schwer durchführbar sein wird.

1) Protalbumose, durch festes Kochsalz im Ueberschuss fällbar, in kaltem und heissem Wasser löslich.

2) Heteroalbumose, durch Kochsalzüberschuss fällbar, in kaltem und in siedendem Wasser unlöslich, dagegen sowohl in verdünntem als in concentrirtem Salzwasser löslich.

3) Dysalbumose, wie Heteroalbumose, jedoch auch in Salzwasser unlöslich.

4) Deuteroalbumose, durch Kochsalzüberschuss nicht, dagegen durch Kochsalz und Säuren fällbar, in reinem Wasser löslich.

[2]) l. c. p. 205.

von 2—4 ‰ bei 40° C., oder ohne Erwärmung bei monatelangem Stehenlassen, wodurch man durch Neutralisation einen mit Syntonin und Hemialbumose gemengten Körper erhält, der dem besten Magensafte wochenlang widersteht. Diesen Körper, welcher die thatsächliche Basis der Meissner-schen Arbeit bildete, hat Kühne in dem als Parapepton bezeichneten Gemenge als Antialbumat bezeichnet; 3) die Bildung dieses Körpers in verdünnter Salzsäure wird durch unzureichende Mengen von Pepsin oder von gewissen Enzymen, wie z. B. durch das käufliche Pepsin Bondault, befördert; 4) wird die Antialbumose, also ein nach weit vorgeschrittener mustergültiger Pepsinverdauung zu erhaltendes Neutralisationspräcipitat, welches nach erstem Ausfällen durch einmal erneute Wirkung jeden guten Magensaftes vollkommen peptonisirbar ist, überraschender Weise nur durch die anscheinend harmlosen Proceduren des wiederholten Fällens, Auswaschens und Verweilens in verdünnter Salzsäure, auch bei Gegenwart von wenig Pepsin, das mit der Fällung unvermeidlich niedergerissen wird, namentlich bei gewöhnlicher Temperatur, entweder ganz oder zu einem grossen Theile in das Antialbumat umgewandelt, also in einen Körper, der von tadellosem Magensafte nicht mehr peptonisirt wird. In den unter 2, 3, 4 beschriebenen Fällen handelt es sich wohl um ein Uebergangsproduct von Antialbumose in Antialbumid.

Nachdem ich nun den Zusammenhang und die Bildung der genannten Stoffe erläutert habe, möchte ich an dieser Stelle noch einige Reactionen anführen, welche die Albumosen von anderen Eiweissstoffen unterscheiden. Wir können hier im Allgemeinen blos von Albumosen sprechen, da die weitere Unterscheidung der einzelnen Stoffe durch Verhalten gegen andere Reagentien, als die angegebenen, noch nicht näher untersucht ist.

In Wasser sind die Albumosen leicht löslich. Vgl. hierzu Anmerkung 1 auf pag. 220. In verdünnter und concentrirter Kochsalzlösung, desgleichen in verdünnter und concentrirter schwefelsaurer Magnesia werden die Albumosen nicht gefällt, so lange die Flüssigkeit neutral ist, sie werden dagegen vollständig gefällt, wenn zu der gesättigten Kochsalzlösung etwas Essigsäure, Salzsäure oder Salpetersäure hinzugefügt wird (Unterschied von Pepton). Vgl. hierzu Anmerkung 1 auf pag. 220.

In Alkalien, Alkalicarbonaten und Kalkwasser sind sie leicht löslich, coaguliren beim Kochen nicht. Beim Neutralisiren verhalten sich die dargestellten Albumosen verschieden, sie sind fällbar oder nicht.

In verdünnter Essigsäure sind sie löslich, ebenso in sehr verdünnter Salzsäure und Schwefelsäure (0,4 %), durch Salpetersäure entsteht ein Niederschlag, der sich im Ueberschuss der Salpetersäure löst (Unterschied von Eiweiss). Beim Erwärmen des Salpetersäureniederschlags löst sich derselbe, erscheint jedoch beim Erkalten wieder.

Beim Kochen in Wasser lösen sich die Albumosen auf (Unterschied von Albumin). Beim Erwärmen in Kochsalzlösungen (verdünnt, eventuell angesäuert) kann bei circa 70° C. Ausfällung erfolgen, der entstandene

Niederschlag löst sich jedoch bei Siedetemperatur wieder auf (Unterschied von Albumin und Pepton). Vgl. hierzu Anmerkung auf pag. 220.

Durch Alkohol werden die Albumosen gefällt, bei Wasserzusatz wieder gelöst (wenn auch nicht immer vollständig?).

Durch Ferrocyankaliumlösung, die mit Essigsäure versetzt wurde, werden sie gefällt (Unterschied von Pepton). Wenig Essigsäure und nur eine Spur von Ferrocyankalium geben eine starke Fällung, die sich beim Erwärmen löst, beim Erkalten wieder erscheint.

Kupfersulfat, Eisenacetat, Eisensulfat fällen die salzarme Lösung nicht.

Millons Reagens färbt roth.

Biuretreaction vorhanden.

Pepton.

Wie wir in dem vorausgehenden Abschnitt über die Albumosen (vgl. diese) gesehen haben, entstehen bei der Einwirkung von Verdauungsfermenten verschiedenartige Peptone. Abgesehen davon, dass die Hemipeptone durch Trypsin weiter zerlegt werden, die Antipeptone aber nicht, zeigen die Peptone — soweit bekannt — gegen Reagentien dasselbe Verhalten.

Die Bezeichnung gewisser Verdauungsprodukte als Trypton ist nach Kühne fallen zu lassen, da sich dieselben besser in den Hemi- und Antikörpern einreihen lassen.

Ausser durch Verdauungsfermente entstehen Peptone aus den Eiweissstoffen durch Fäulniss, durch längere Behandlung mit starken Mineralsäuren und mit Aetzalkalilösung, verdünnte Säuren und Alkalien peptonisiren die Albumine erst bei Siedetemperatur.

In ihrer procentischen Zusammensetzung zeigen sie einen geringeren Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt, als die Eiweisskörper, aus denen sie gebildet wurden, ohne dass jedoch bei der Peptonisirung weder Schwefel noch Ammoniak noch Kohlensäure ausgeschieden wird. Der procentisch geringere Gehalt an C und N erklärt sich durch die Aufnahme von Wasser. Eiweiss nimmt bei der Peptonisirung nach Danilewski 5,7—6,7 % Wasser auf, der Uebergang von Eiweiss in Pepton ist demnach wohl als eine Hydratbildung aufzufassen. Für diese Auffassung sprechen nach Hoppe-Seyler[1]) auch noch folgende Thatsachen: 1) das Gewicht der Albuminstoffe nimmt beim Uebergang in Pepton zu, 2) bei der Behandlung mit Essigsäureanhydrit oder beim Erhitzen auf 140—170° findet unter Austritt von Wasser eine Ueberführung in Albumose oder Acidalbumin statt, 3) die Sättigungscapacität der Peptone durch Basen und Säuren ist grösser als die irgend eines anderen Albuminstoffes.

Demgemäss ist die Auffassung, dass das Eiweiss nur eine polymere Verbindung des Peptons sei, wohl nicht mehr haltbar.

---

[1]) l. c. p. 287.

Zahlen, welche der wirklichen procentischen Zusammensetzung entsprechen, sind sehr schwer zu erhalten, da man wohl niemals vollkommen reines Pepton erhält. Nichtsdestoweniger möchte ich wenigstens den Werth für Fibrin (Mittel) und für die daraus gebildete Hemialbumose und das Antipepton (Kühne-Chittenden) hier anführen, sowie die Angaben für Hemialbumose und Hemipepton und Antipepton aus Eiweiss (nach Kühne und Chittenden).

	Fibrin	Hemialbumose	Antipepton
C.	52,51 %	50,32 %	48,60 %
H.	6,98	6,72	6,60
N.	17,34	16,83	15,39
S.	1,18	1,37	1,35
O.	21,99	24,76	28,06

	Albumin	Hemialbumose	Hemipepton	Antipepton.
C.	52,25 %	50,96 %	49,38 %	49,87 %
H.	6,90	6,85	6,81	6,89
N.	15,25	15,88	15,07	15,21
S.	1,93	1,45	1,10	28,03 (S. + O.)
O.	23,97	24,86	27,64	

Zur Darstellung von Pepton verwendet man am besten künstliche Verdauungsflüssigkeiten. Die Bereitung der Trypsinlösung nach Kühne'scher Methode habe ich schon in der Einleitung angeführt (vgl. pag. 7).

Zur Pepsinverdauung kann man entweder das käufliche Pepsinglycerin verwenden, das durch Extrahiren der Schleimhaut des Schweinemagens mit Glycerin gewonnen wird, oder man gebraucht, besonders wo eine kräftige, constante Verdauung verlangt wird, eine wässrige, schwach salzsaure Verdauungsflüssigkeit, welche man sich frisch bereitet. Dieselbe wird gewonnen [1]), indem man die Innenseite eines frischen Schweinemagens mit Wasser abwäscht, das Epithel mit einem Tuche abtupft und mit einem stumpfen Spatel in der Weise sanft abstreift, dass der Inhalt der Drüsen als dicker Brei austritt. 10 gr. des Breies werden mit einem Liter Salzsäure von 0,4% 4 Stunden unter häufigem Umrühren auf 40° C. erwärmt, nach welcher Zeit ein körniger, wesentlich aus den Kernen der Drüsenzellen bestehender Rest oder noch einige schleimige Flocken oder Fäden zurückbleiben.

Für feinere mikroskopische Objecte empfiehlt W. Kühne [2]) statt der Salzsäure Oxalsäure anzuwenden. Derselbe gibt als gut verdauend eine Mischung von 100 cbcm Oxalsäure von 0,3% und 1 cbcm Pepsinglycerin an.

Die Pepsin- und Trypsinverdauung vollzieht sich besser bei einer Temperatur von 40—45° C.

Zur Darstellung von Pepton eignet sich am besten Fibrin, während coagulirte Eiweissstoffe nur langsam verdaut werden. Das mit dem 5—6 fachen Volumen Salzsäure von 0,2—0,4% versetzte Fibrin lässt man zu einer glasigen Masse aufquellen, fügt Pepsinlösung hinzu und lässt bei 40—45° stehen, bis eine opalisirende graue Lösung entstanden ist. Man neutralisirt mit Natriumcarbonat, bis blaues Lakmuspapier schwach violett

1) Nach Kühne und Chittenden l. c. p. 184.

2) W. Kühne, Kurze Anleitung zur Verwendung der Verdauung in der Gewebsanalyse. Untersuchungen aus d. physiol. Institut der Universität Heidelberg. I. Bd. 1878. p. 219.

gefärbt wird, filtrirt von dem entstandenen Niederschlag ab, erhitzt nach schwachem Ansäuern und filtrirt nochmals. Aus dem Filtrat fällt man das Pepton mit absolutem Alkohol, extrahirt den auf Filtern gesammelten Niederschlag mit Aether und Aether-Alkohol und lässt ihn 2—3 Wochen unter absolutem Alkohol stehen, wodurch das noch vorhandene Eiweiss vollständig coagulirt, das Pepton dagegen in Wasser löslich bleibt. Die Fällung und Auflösung durch Alkohol resp. Wasser kann wiederholt werden, die entstandenen Niederschläge darf man jedoch nur bei einer Temperatur trocknen, die nicht höher ist als 30° C., da das Pepton sonst unlöslich wird.

Statt dieser zu lange dauernden Procedur kann man das Pepton frei von Eiweiss und Albumosen erhalten, wenn man die von dem oben angegebenen Neutralisationspräcipitat abfiltrirte Flüssigkeit mit neutralem schwefelsaurem Ammoniak sättigt[1]), wobei nur das Pepton löslich bleibt, die übrigen Eiweissstoffe gefällt werden. Durch Dialyse entfernt man das hinzugefügte Salz.

Zur Trennung von Pepton und Albumosen eignen sich auch die von Hofmeister[2]) angegebenen Methoden, auf welche ich hier blos verweisen will.

Was die Eigenschaften der Peptone anbelangt, so zeichnen sich dieselben vor den übrigen Eiweisskörpern durch ihre grössere Löslichkeit und die geringe Coagulationsfähigkeit aus.

In Wasser, verdünnten und gesättigten Neutralsalzlösungen, neutralem schwefelsaurem Ammon (gesättigt), phosphorsauren Alkalien, Aetzakalien, Kalk- und Barytwasser sind die Peptone leicht löslich.

Die mit Kochsalz gesättigte Lösung gibt beim Ansäuern mit Essigsäure, Salzsäure oder Metaphosphorsäure keinen Niederschlag.

Beim Neutralisiren einer sauren oder alkalischen Lösung entsteht kein Niederschlag.

Durch Kohlensäure wird das Pepton nicht gefällt.

In verdünnter und concentrirter Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure, Metaphosphorsäure ist das Pepton löslich.

Salpetersäure fällt die verdünnteren Lösungen nicht, wohl aber die concentrirten, beim Erwärmen löst sich der Niederschlag auf.

Durch Hitze wird Pepton nicht coagulirt, bei höherer Temperatur getrocknet, wird es in Wasser schwerer löslich.

In absolutem Alkohol ist Pepton unlöslich, in Weingeist jedoch dem Wassergehalte entsprechend löslich. Durch die Behandlung mit Alkohol büsst es seine Löslichkeit in Wasser nicht ein.

Nach längerem Verweilen unter Alkohol oder Alkoholäther soll (nach

---

[1]) Kühne, Albumosen und Peptone, Verhandlungen des naturhistorisch-medizinischen Vereins zu Heidelberg. N. F. Bd. III, Heft 4, 1885. p. 286—294.

[2]) F. Hofmeister, Zur Lehre vom Pepton. Zeitschrift f. physiolog. Chemie. Bd. IV, 1880. p. 255 und p. 268.

Pöhl) Pepton wieder in Eiweiss zurück verwandelt werden, so dass die betreffenden Lösungen wieder von Ferrocyankalium plus Essigsäure gefällt werden.

Kupfersulfat gibt keinen Niederschlag.

Mit einem Tropfen Kupferlösung versetzt, welche so verdünnt ist, dass man die blaue Farbe nur in dichteren Schichten erkennen kann, gibt die Peptonlösung bei Zusatz von Natronlauge eine rothe bis rothviolette Färbung (Biuretreaction).

Mit Essigsäure oder Salpetersäure versetzte Ferrocyankaliumlösung fällt das Pepton nicht. Mit Ammoniak versetzte Bleiessiglösung schlägt das Pepton nieder.

Fügt man zu der essigsauren Lösung ein Eisensalz, und kocht auf, so bleibt das Pepton in Lösung, während alle übrigen Eiweissstoffe mit dem Eisenoxyd niederfallen.

Salpetersaures Silberoxyd wird von Pepton in der wässrigen Lösung langsam reducirt, in concentrirteren Peptonlösungen erzeugt das salpetersaure Silberoxyd einen Niederschlag, der sich beim Erwärmen schwarz färbt.

In Essigsäure gelöst geben Peptone bei Zusatz von concentrirter Schwefelsäure violettblaue Färbung mit schwach grüner Fluorescenz.

Peptone diffundiren etwas durch Membranen, jedoch nicht so schnell, wie die beigemengten Salze, Säuren und Basen. Die Diffusibilität durch Kautschukdialysatoren ist gering.

Nucleine.

Als Nucleine bezeichnet man sehr verschiedenartige Proteinsubstanzen, welche nur in sehr ungenügender Weise untersucht und noch nicht rein dargestellt worden sind, sich jedoch von den Eiweissstoffen durch drei Eigenschaften wesentlich unterscheiden, 1) sie sind sehr reich an Phosphor, den sie nicht etwa als phosphorsaures Salz enthalten, sondern chemisch gebunden, die Nucleine sind demnach organische Phosphorverbindungen, die sich jedoch durch ihre Unlöslichkeit in kaltem und warmem Alkohol von Lecithin und ähnlichen organischen Phosphorverbindungen leicht trennen lassen; 2) die Nucleine werden bei der Pepsin-Salzsäurebehandlung nicht verdaut; sie bleiben vollständig unverändert; 3) bei der Zersetzung liefern sie einen oder mehrere Stoffe der Xanthingruppe — Xanthin, Hypoxanthin (oder Sarkin), Guanin, ausserdem noch Eiweissstoffe. Ob Stoffe, die bei der Zersetzung nur Eiweissstoff und Phosphorsäure liefern, auch als Nucleine anzusehen sind, wie dies Hoppe-Seyler[1]) annimmt, scheint mir doch sehr fraglich zu sein, da hier möglicherweise durch Pepsin nicht weiter angreifbare Antialbumosen vorliegen konnten.

Die verschiedenen Nucleine differiren sehr wesentlich in Bezug auf die Menge ihres Phosphorgehaltes, in ihren Zersetzungsproducten und in ihren Löslichkeitsverhältnissen. So differirt der Phosphorgehalt der Nucleine verschiedener

---

[1]) l. c. p. 303.

Herkunft zwischen 2 % und 9 %; aber auch gleichartige Nucleine zeigen nicht unter allen Umständen denselben Phosphorgehalt. So hat z. B. Lubavin in der Milch (ausser dem Casein) Nuclein nachgewiesen, welches bei fractionirter Fällung mit Salzsäure aus seiner Lösung in 1 % Soda anfangs P ärmere, Fe reichere, später P reichere und Fe ärmere Praecipitate lieferte. Behandelt man ferner das aus der Kuhmilch gewonnene Casein 1—4 Tage mit Pepsinsalzsäure, so erhält man ein Nuclein, das 2—3 % P enthält, wird länger verdaut, so enthält der unlösliche Nucleinrückstand 4,37 % Phosphor.

Was die Verschiedenartigkeit der Zersetzungsproducte anbelangt, so beziehen sich die Differenzen der einzelnen Nucleine auf den verschiedenen Gehalt an Körpern der Xanthingruppe, sowie auf die Verschiedenartigkeit der auftretenden Eiweissstoffe.

So lange jedoch die Darstellungsmethoden des Nucleins noch so unvollkommen sind, wie bei den meisten Untersuchungen, kann man nach meiner Ansicht nicht unterscheiden, was Zersetzungsproduct ist und was ursprünglich aus den Zellen zugleich extrahirter Eiweissstoff ist. Namentlich gilt dies von Methoden, bei denen von der Anwendung pepsinhaltigen Verdauungssaftes abgesehen wurde. So hat z. B. Kossel[1]) aus Hefe Nuclein dargestellt, indem er Hefe in sehr verdünnte Natronlauge gebracht hat, diesen Auszug in verdünnte Salzsäure eintröpfelte. Der gebildete Niederschlag wird anfangs mit Salzsäure, später mit Alkohol gewaschen und dann getrocknet. Wenn wir bedenken, wie sich bei den von mir untersuchten Pflanzen durch verdünntes Alkali so mannigfaltige Stoffe extrahiren lassen, die zugleich in verdünnter Salzsäure unlöslich sind, müssen wir zur Ueberzeugung gelangen, dass dies auch bei der Hefe stattfindet, die ja ebenfalls eine complicirt zusammengesetzte Pflanzenzelle ist. Jedenfalls genügt das Waschen mit verdünnter Salzsäure nicht, um alle Eiweissstoffe zu entfernen.

Aber auch zwischen den nach besseren Methoden dargestellten Stoffen bestehen, wie schon F. Miescher[2]), der Entdecker der Nucleine, gezeigt hat, sehr bedeutende Unterschiede, welchen Miescher dadurch Ausdruck gegeben hat, dass er lösliche und unlösliche Nucleine unterschied. Für gewisse Fälle ist jedoch nachgewiesen, dass die unlösliche Modification in die lösliche übergeht, so z. B. beim Nuclein des Eiters. Dieser Forscher fand auch, dass bestimmte Nucleine verschiedene Verbindungen eingehen können, so ist z. B. das Nuclein des Lachsspermas an eine organische Base, das „Protamin" gebunden, während dies bei dem Nuclein des Stierspermas nicht der Fall ist.

Dieser hier nur angedeuteten Mannigfaltigkeit der Nucleine entsprechen nun auch die Reactionen und Löslichkeitsverhältnisse und wir müssen uns

---

[1]) Ueber das Nuclein der Hefe I, Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. 3 p. 284—291.

[2]) Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere. Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft in Basel. Bd. VI, Heft 1. 1874, p. 138—208.

daher in dieser Zusammenstellung nur auf die allgemeiner gültigen Eigenschaften beschränken.

Dargestellt wurden Nucleinkörper aus sehr verschiedenen thierischen Organen und Pflanzen. So aus Spermatozoiden, Blutkörperchen und Eiterzellen, aus Kuhmilch, Muskeln, Gehirn, Leber, Eidotter; ferner von Pflanzen aus Hefe, Schimmelpilzen, Raps-, Erdnuss-, Mohn-, Baumwollensamen und verschiedenen Futtermitteln. Eine vortreffliche Uebersicht über die meisten der bisherigen Arbeiten gibt E. Zacharias[1]), auf welche ich speciell verweisen möchte, da dort auch die nähern Litteraturangaben zu finden sind.

Die Nucleine wurden auf verschiedene Weise von den einzelnen Forschern dargestellt, doch dürfte folgendes Verfahren am besten zu verwenden sein. Man digerirt die betreffenden Organe, oder, wo es möglich ist, die auf mechanischem Wege isolirten Kerne 3—4 Mal mit warmen Alkohol, um Fette und Lecithin zu entfernen. Die durch den Alkohol coagulirten Proteinsubstanzen werden bei circa 40° C. mit Pepsinsalzsäure der Verdauung unterworfen, wobei es angezeigt ist, die Verdauungsflüssigkeit 1—2 Mal zu erneuern und mindestens 24 Stunden wirken zu lassen. Der unverdaute Rückstand wird auf dem Filter gesammelt, mit Alkohol, Aether, Wasser gewaschen und schliesslich nochmals mit warmem Alkohol extrahirt, um die letzten Lecithinreste zu entfernen.

Was die Reactionen der Nucleine anbelangt, so habe ich ausser den allgemein gültigen Löslichkeitsverhältnissen auch noch einige aufgenommen, welche bisher nur für einzelne Nucleine festgestellt wurden und mit einem * bezeichnet.

Die Nucleine sind in Wasser unlöslich oder doch nur in ganz geringer Menge löslich.

In Kochsalz quellen sie zu schleimigen Gallerten auf, ohne sich jedoch zu lösen.

*Natriumacetat löst Nuclein.

*Auf Zusatz von Chlorbaryum, Chlorcalcium, Chlormagnesium entstehen in einer circa 40% Alkohol enthaltenden ammoniakalischen Lösung flockige weisse in Ammon unlösliche Fällungen, die sehr wahrscheinlich salzartige Verbindungen der Basen mit dem den Charakter einer Säure besitzenden Nuclein darstellen (lösliche Modification). Der Niederschlag entsteht auch ohne Alkoholzusatz (unlösliche Modification).

Dinatriumphosphat löst die Nucleine zu einer beim Kochen klar bleibenden Lösung. Setzt man zu dieser Lösung Salzsäure, so entsteht ein Niederschlag, der sich im Ueberschuss nicht auflöst.

Verdünnte Aetzalkalien lösen die Nucleine auf, zersetzen dieselben jedoch nach einiger Zeit. Das Nuclein des Stiersamens (unlösliche Modification des Nucleins) löst sich erst bei 80° C.

In verdünnter Sodalösung (1%) ist die sogenannte lösliche Modification leicht löslich, die sogenannte unlösliche Modification dagegen nicht.

[1]) Bot. Zeitung 1882. p. 639 ff.

Ammoniak löst Nucleine auf, die unlösliche Modification jedoch nur schwer.

Die unlösliche Modification von Kali aufgenommen, durch Salzsäure gefällt, gibt eine in verdünnter Sodalösung leicht lösliche Modification, ebenso die in concentrirter Salzsäure aufgelösten Nucleine. Es scheint mir hierbei eine durchgreifendere Zersetzung nicht ausgeschlossen zu sein.

Die Lösung in Natron oder Ammoniak reagirt sauer, so lange noch etwas überschüssiges Nuclein vorhanden ist.

Aus der alkalischen Lösung fällt verdünnte Salzsäure das Nuclein vollständig aus; der Niederschlag verschwindet bei weiterem Zusatz von Salzsäure. Die Lösung in Salzsäure gibt beim Neutralisiren mit Ammoniak oder nach Zusatz von 10% Kochsalz oder von Ammoniumchlorid einen Niederschlag.

In verdünnter Essigsäure sind die Nucleine unlöslich, dieselben werden aus der alkalischen Lösung ausgefällt, ohne im Ueberschuss der Säure löslich zu sein. Eisessig löst weder bei gewöhnlicher Temperatur noch beim Kochen.

In verdünnter Salzsäure (0,1—1%) sind die Nucleine unlöslich, quellen auch darin nicht auf. (Durch verdünnte Salzsäure kann man daher ein Gemisch leicht von den Phosphaten und von Glycerinphosphorsäure befreien.) Ein nicht zu bedeutender Ueberschuss von Salzsäure löst ebenfalls noch nicht. Rauchende Salzsäure löst das Nuclein, fügt man nach kurzer Zeit Wasser hinzu, so tritt Fällung ein, nach einigen Minuten dagegen nicht mehr. Es spricht dies für eine Umwandlung und Zersetzung des Nucleins.

Verdünnte Salpetersäure fällt das Nuclein, concentrirte Säure löst ohne Gelbfärbung, erst beim Erwärmen wird die Flüssigkeit schwach gelb, auf Zusatz von Ammoniak braungelb oder orangefarbig.

*Kochen mit Wasser zersetzt Nuclein, es entstehen lösliche und unlösliche Derivate.

In kaltem und warmen Alkohol ist es unlöslich, nach längerem Stehen unter Alkohol absolutus wird es von den gewöhnlichen Lösungsmitteln nicht mehr aufgenommen.

*Weingeist trübt die ammoniakalische Lösung erst bei einem Alkoholgehalt von weit über 50%. (Heisser Alkohol trennt es vollständig von Lecithin.)

In Aether ist es unlöslich.

Bei der Pepsinverdauung bleibt es ungelöst, wie es sich in Trypsin verhält, ist unbekannt.

Kupfersulfatlösung gibt auch ohne Alkoholzusatz mit neutralen Nucleinlösungen einen grünflockigen, in Wasser unlöslichen, in Ammon löslichen Niederschlag; durch ammoniakalische Kupferlösung ist es nicht fällbar. Beim Erhitzen mit Natronlauge geben die Nucleine mit einem Tropfen Kupfersulfatlösung eine rothviolette Färbung. Ob die Biuretreaction auch ohne Erhitzen mit Natronlauge eintritt, ist fraglich.

*Chlorzink und neutrales Silbernitrat geben mit Nucleinen Nieder-

schläge, das letztere erst in concentrirteren Lösungen. Ammoniakalische Silberlösung gibt keine Trübung.

*Zur Lösung in Natriumacetat neutrales Bleiacetat gesetzt, gibt einen weissen körnigen Niederschlag (Nuclein der Milch). Die Ausscheidung ist keine vollkommene.

*Goldchlorid fällt die salzsauren Verbindungen aus concentrirteren Lösungen.

*Platinchlorid gibt in der wenig sauren Lösung einen Niederschlag.

Millons Reagens gibt rothe Niederschläge, wenn die Farbe auch meistens nicht stark hervortritt.

Nucleine werden durch Jod gelb gefärbt, das Jod lässt sich nur schwer auswaschen.

Desgleichen imbibiren Nucleinniederschläge ammoniakalische Carminlösung sehr lebhaft.

Die von Ritthausen dargestellten Eiweisskörper.

Ritthausen theilt die in den Samen der Getreidearten, Leguminosen und Oelpflanzen vorkommenden Eiweisskörper in drei Gruppen ein.

1) **Eiweiss:** Pflanzeneiweiss oder Pflanzenalbumin.
2) **Pflanzencasein:**
   a. Legumin.
   b. Glutencasein.
   c. Conglutin.
3) **Kleberproteinstoffe oder die Gruppe des Pflanzenleims:**
   a. Gliadin oder Pflanzenleim.
   b. Mucedin.
   c. Glutenfibrin.

Die erste Gruppe, das Pflanzenalbumin, steht in seinen Eigenschaften dem thierischen Eiweiss nahe.

Die zweite Gruppe, die Pflanzencaseine, sind unlöslich in Wasser, dagegen löslich in verdünntem Kali, Dikaliumphosphat, aus welchen Lösungen sie durch verdünnte Essigsäure und Salzsäure herausgefällt werden. Ueberschüssige Säure löst die Niederschläge mehr oder weniger vollständig auf.

Die dritte Gruppe, die Pflanzenleime, zeichnen sich durch ihre Löslichkeit in Weingeist aus, durch ihre physikalische Beschaffenheit, ihre leichtere Löslichkeit in verdünnten Säuren und ihre Quellbarkeit in heissem Wasser.

Bevor ich über diese von Ritthausen dargestellten Eiweisskörper ein definitives Urtheil abgebe, beabsichtige ich die Samen der von ihm untersuchten Pflanzen nach meiner eigenen Methode zu untersuchen. Ohne eine derartige genaue Prüfung wäre es voreilig, die Existenz derartiger Stoffe in den Samen zu bestreiten, doch glaube ich, werden die Ansichten Ritthausens wesentlich modificirt werden müssen.

Trotz dieses Vorbehaltes kann ich es nicht unterlassen, an dieser Stelle

meine Gründe darzulegen, weshalb ich die Eintheilung Hoppe-Seylers vorgezogen habe und diese zum Ausgangspunkt meines Vergleiches mit den von mir gefundenen Proteinstoffen gemacht habe.

Die Albumingruppe war bei der mehr oder weniger vollständigen Identität der thierischen und pflanzlichen Substanzen nicht entscheidend.

Die Pflanzenleime kommen nicht in Betracht, da in dem Protoplasma der von mir untersuchten Zellen keine Eiweissstoffe vorhanden waren, die in Alkohol löslich sind oder in heissem Wasser aufquellen. Es wäre daher nutzlos gewesen nach diesen Stoffen im Protoplasma weiter zu suchen, womit ich jedoch nicht ausschliessen will, dass derartige Stoffe vielleicht im Zellsaft vorkommen.

Die Existenz der von Ritthausen als Pflanzencaseine bezeichneten Substanzen ist schon von verschiedenen Seiten angezweifelt worden und mit Recht. Ritthausen hat nicht in genügender Weise die Veränderungen berücksichtigt, welche durch die bei der Extraction angewendeten Stoffe, speciell durch die verdünnte Kalilauge hervorgerufen worden sind. Die Umwandlung in Albuminate geschieht so leicht, besonders wenn man längere Zeit die Eiweissstoffe mit Kali in Berührung lässt, sie wird begünstigt durch die Anwesenheit anderer Substanzen, wie z. B. Alkohol, dass bei der Darstellungsweise Ritthausens die Bildung von Albuminaten mehr als wahrscheinlich war.

Diesem Vorwurfe hat Ritthausen dadurch zu begegnen gesucht, dass er die Substanzen verglich, welche er einerseits mit Kali, andererseits mit 10procentiger Kochsalzlösung extrahiren konnte. Es stellte sich nun heraus, dass die Abweichungen in der procentischen Zusammensetzung beider Stoffe nur gering waren, woraus Ritthausen folgert, dass verdünnte Kalilauge keine Zersetzungen und Umwandlungen hervorgerufen hat. Ich muss gestehen, dass ich auf die ermittelte procentische Zusammensetzung bei den Proteinkörpern überhaupt nicht viel Werth lege, aber selbst wenn es möglich wäre die untersuchten Stoffe vollständig rein darzustellen, ist es ganz und gar nicht gesagt, dass bei der Unmöglichkeit, die zu untersuchenden Stoffe rein darzustellen, eine derartige Umwandlung von Albuminen oder Globulinen in Albuminate auch in der procentischen Zusammensetzung ihren Ausdruck findet, es ist dies sogar sehr unwahrscheinlich.

J. Barbieri hat zu demselben Zwecke die Eiweisssubstanz der Kürbissamen mit Kochsalzlösung von 10% und mit verdünnter Kalilauge ausgezogen. Die durch Waschen mit Aether und Petroleum vom Fett befreiten Proteinkörner waren in verdünnter Kalilauge vollständig, in 10procentiger Kochsalzlösung aber nur zu 76% löslich. Bei der Darstellung vermittelst der Kalilauge wurden demnach zwei verschiedene Stoffe gewonnen und analysirt, von denen der eine in Kochsalz löslich, der andere unlöslich war. Bei der Kochsalzbehandlung blieb ¼ der ganzen Substanz zurück. Ich glaube demnach bestimmt, dass die nach der Ritthausen'schen Methode, d. h. mit Kalilauge dargestellte Substanz ein Gemenge verschiedener Stoffe

war. Gegen diese Schlussfolgerung beweist die Thatsache nichts, dass die Substanz der Kochsalz- sowie der Kaliextraction dieselbe procentische Zusammensetzung zeigte.

Was schliesslich auch dafür spricht, dass Ritthausen Stoffgemenge vorgelegen haben, sind seine so unbestimmt gehaltenen Angaben über die Löslichkeitsverhältnisse; theilweise löslich kann zum Beispiel eine Substanz nur sein, wenn sie ein Stoffgemenge ist, oder wenn sie durch das Lösungsmittel zersetzt wird. Ich will jedoch hierauf kein besonderes Gewicht legen.

Ausserdem glaube ich, ist der Analogieschluss nicht vollständig unberechtigt, dass ebenso wie in den von mir untersuchten Zellen durch verdünnte Kalilauge eine grössere Anzahl verschiedener Proteinstoffe ausgezogen wurde, auch bei den Samen durch die verdünnte Kalilauge verschiedenartige Proteinstoffe extrahirt wurden.

Nach alledem halte ich die von Ritthausen unterschiedenen Pflanzencaseine für Gemische, sei es nun, dass bei der Darstellung verschiedenartige Proteinkörper zugleich extrahirt wurden, oder dass durch die verdünnte Kalilauge partielle Umwandlungen in Albuminate stattgefunden hatten. Ich schloss mich der Auffassung Hoppe-Seylers an, weil die von diesem Forscher unterschiedenen Stoffe viel wahrscheinlicher einheitliche Substanzen sind.

§ 39. Vergleich der von mir gefundenen Proteinstoffe mit den macrochemisch dargestellten Substanzen.

Wir haben aus den vorhergehenden Paragraphen gesehen, dass wir eine Unterscheidung machen können zwischen verdaubaren und nicht verdaubaren Proteinstoffen. Diese Trennung wollen wir der folgenden Betrachtung zu Grunde legen.

Es hat sich bei meinen Untersuchungen herausgestellt, dass die grössere Anzahl der von mir in der Pflanze gefundenen Stoffe bei der Verdauung in Pepsin-Salzsäure nicht peptonisirt wird. Es sind dies Cytoplastin, Chloroplastin, Chromatin, Linin, Pyrenin und Amphipyrenin. Wenn wir alle unverdaubaren Proteinstoffe als Nucleine bezeichnen, müssen wir consequenter Weise alle die eben genannten Substanzen gleichfalls als Nucleine auffassen. Das Vorkommen der Nucleine in der Pflanze wäre demnach nicht blos auf den Kern beschränkt, diese Stoffe wären vielmehr in allen Zellorganen vorhanden.

Es fragt sich nun, ob der eine oder der andere dieser Stoffe mit den Eigenschaften der bisher dargestellten Nucleine vollständig übereinstimmt.

E. Zacharias bezeichnet die Plastine (gleichbedeutend mit unseren Cytoplastin und Chloroplastin) als die unlösliche Modification der Nucleine. Nach meiner Ansicht ist diese Auffassung jedoch nicht berechtigt, indem sich die Plastine durch wesentliche Reactionen von der unlöslichen Modification der Nucleine unterscheiden. Eine kurze Gegenüberstellung beider wird uns die Differenzen am anschaulichsten machen.

	Cytoplastin und Chloroplastin	Unlösliche Modification des Nucleins
10—20 % Kochsalz	vollständig unlöslich, bei stärkerer Concentration gar nicht quellend	zu einer Gallerte aufquellend
5 % Dinatriumphosphat ..	nur schwer löslich oder unlöslich (Cytoplastin)	löslich
Concentrirte Kalilauge ...	unlöslich, nicht quellbar	löslich (zum mindesten stark quellbar)
50 % Essigsäure oder Eisessig	quellbar, Umwandlung in eine Gallerte	unlöslich
Rauchende Salzsäure	gefällt und unlöslich	löslich
Färbungsvermögen	gering	intensiv

Die hier angeführten Reactionen sind nicht alle gleich prägnant, aber schon das Verhalten gegen concentrirte Kalilauge und concentrirte Salzsäure genügen, um die Auffassung zu beseitigen, dass die Plastine identisch seien mit der unlöslichen Modification der Nucleine.

Das Chromatin stimmt in einigen Eigenschaften, soweit wir es bis jetzt übersehen können, entschieden mit der löslichen Modification des Nucleins überein. Die Uebereinstimmung ist jedoch keine vollständige, aus welchem Grunde ich davon Abstand genommen habe, den Namen Chromatin einfach durch Nuclein zu ersetzen. Ausserdem schien es mir nicht gerechtfertigt, das Chromatin allein als Nuclein zu bezeichnen, da die übrigen von mir gefundenen, nicht verdaubaren Proteinstoffe mit demselben Recht als Nucleine zu bezeichnen wären, da sie theilweise ja auch mit den bisher dargestellten Nucleinen übereinstimmen, diesen vielleicht sogar näher stehen als das Chromatin.

Die leichte Löslichkeit des Chromatins in Wasser könnte möglicher Weise durch die im Protoplasma vorhandenen Alkalien resp. Phosphate bedingt sein, ist also zur Charakterisirung unseres Stoffes nicht geeignet.

Auffallender ist die leichte Löslichkeit des Chromatins in 10 % und 20 % Kochsalz, während die Nucleine unlöslich, wenn auch quellbar sind. Durch das Kochsalz wurde die Löslichkeit des Chromatins entschieden bedeutend gesteigert, da es ja auch in Kernen, welche in Wasser unlöslich waren, aufgelöst wurde, die Löslichkeit in Kochsalz ist daher nicht bedingt durch die im Plasma vorhandenen Kalisalze.

In concentrirter Salzsäure wird das Chromatin zu einer Gallerte, es löst sich jedoch nicht auf wie die lösliche Modification des Nucleins.

Schwefelsaures Kupfer löst das Chromatin, das Nuclein wird jedoch gefällt.

Möglicher Weise dass bei dem Chromatin die im Protoplasma vorhandenen Alkalien diese Reaction modificiren, indem ja alkalische Kupferlösung

das Nuclein ebenfalls nicht ausfällt, es gehört hiezu jedoch wohl eine grössere Kalimenge als im Protoplasma angenommen werden kann.

In den übrigen Reactionen schliesst sich das Chromatin dem Nuclein (lösliche Modification) ziemlich nahe an; doch genügen die angegebenen Unterschiede, um beide für nicht identisch anzusehen.

Dasselbe, was ich vom Chromatin sagte, gilt auch vom Pyrenin und Amphipyrenin. Es stimmt in einigen Reactionen mit dem Nuclein überein, aber nicht in allen.

Von 10procentiger Kochsalzlösung wird das Pyrenin und Amphipyrenin aufgenommen, das Nuclein dagegen nicht.

In 50% Essigsäure quellen Nucleolus und Kernmembran, das Nuclein (ebenso das Chromatin) ist unlöslich.

In Salzsäure von 1% quellen Pyrenin und Amphipyrenin oder lösen sich sogar in gewissen Fällen. Das Nuclein ist vollständig unlöslich und fällbar.

In concentrirter Salzsäure quellen unsere beiden Stoffe, die Nucleine werden gelöst.

Eine grössere Uebereinstimmung als bei den bisher genannten Stoffen finden wir bei dem Linin. Es repräsentirt diese Substanz, wenn wir von den in Theilung befindlichen Kernen absehen, die Hauptmasse des Kernes. Es dürfte also bei den Untersuchungen kernreicher Organe die Gerüstsubstanz, das Linin für die Eigenschaften des dargestellten Nucleingemenges ausschlaggebend gewesen sein.

Der Unterschied zwischen den dargestellten Nucleinen und dem Linin ist mehr untergeordnet. Das Linin ist zwar in 10% Kochsalz löslich, das Nuclein nur quellbar, aber schon bei einer Steigerung der Concentration der Kochsalzlösung von 10% auf 20% erhält das Linin ebenfalls die Eigenschaft des Nucleins, in Kochsalz aufzuquellen.

In 50% Essigsäure quillt das Linin, ohne sich jedoch zu lösen, das Nuclein ist ebenfalls unlöslich, quillt jedoch nicht auf.

In concentrirter Salzsäure löst es sich zwar nicht auf, aber es wird doch in eine Gallerte verwandelt.

Sonst stimmt es jedoch in seinen Eigenschaften mit dem Nuclein, soweit wir dies beurtheilen können, ziemlich weitgehend überein.

Eine vollständige Identificirung der in Pepsin-Salzsäure unverdaubaren Stoffe mit einem der dargestellten Nucleine ist in keinem Falle durch die übrigen Reactionen gerechtfertigt.

Zu erwähnen wäre vielleicht noch, dass man daran denken könnte, einen Theil der von uns unterschiedenen Stoffe mit den von Kühne und Chittenden als Albumate bezeichneten Körpern (vgl. die Albumosen) in Verbindung zu bringen, die ebenfalls durch Pepsin nicht peptonisirt werden. Dagegen spricht jedoch, dass diese Albumate erst künstlich aus Eiweisskörpern erhaltene Producte sind, die möglicher Weise als Coagulationsproducte aufzufassen sind. Ist mir eine derartige Verwandtschaft mit unseren Stoffen auch nicht wahrscheinlich, so werden doch vielleicht erst weitere Untersuchungen, nament-

lich der entstehenden Zersetzungsproducte darüber sicheren Aufschluss geben. Da jedoch unsere Stoffe in einer ganzen Anzahl von Reactionen den Nucleinen gleichen, sind wir viel eher berechtigt, diese Substanzen zu der Gruppe der Nucleine zu rechnen.

Was nun die in Magensaft peptonisirbaren Stoffe anbelangt, so treten dieselben im unveränderten Protoplasma der Menge nach sehr zurück.

Das Metaxin und die Zwischensubstanz des Kernes des Paralinin sind in Pepsin-Salzsäure verdaubar, also eigentliche Eiweissstoffe. Soweit meine in dieser Abhandlung nicht erwähnten Untersuchungen reichen, dürften sich diesen Stoffen auch der wesentlichste Bestandtheil der Stärkebildner anschliessen. An dieser Stelle seien nur das Metaxin und Paralinin ins Auge gefasst.

Es handelt sich hauptsächlich darum, zu entscheiden, ob die genannten Stoffe zu den Albuminen, Globulinen oder Alkalialbuminaten in näherer Beziehung stehen.

Untersuchen wir zunächst das Metaxin.

Das Verhalten gegen Wasser gewährt uns keinen sicheren Anhalt, da wir nicht wissen können, ob die Lösung oder das starke Aufquellen durch Alkalien des Protoplasmas bedingt ist.

In Kochsalz von 10% ist das Metaxin wohl quellbar, aber nicht eigentlich löslich, es spricht dies gegen Albumin und Globulin, aber auch nicht für Albuminat, da dies unlöslich ohne Quellung ist. Die Unlöslichkeit in gesättigter Lösung von Kochsalz schliesst Albumin aus, ist jedoch für Globulin und Albuminat geltend zu machen.

Das Verhalten in Monokaliumphosphat spricht nur gegen Albumin.

Dinatriumphosphat löst die drei dargestellten Stoffe, das Metaxin quillt nur auf.

Wenn das Metaxin auch quellbar ist in Essigsäure von 0,2 und 1%, so ist es doch niemals löslich darin. Hierdurch wird wiederum Albumin ausgeschlossen. Gegen die Verwandtschaft mit Globulin und Albuminat spricht das Verhalten des Metaxins gegen Essigsäure und Salzsäure, die das Metaxin in keiner Concentration auflösen.

Wir sehen demnach, dass das Metaxin weder mit Albumin noch mit Globulin noch mit Albuminat übereinstimmt. Ebenso lassen sich Reactionen gegen die Verwandtschaft mit den Albumosen und Peptonen geltend machen. Es ist vielmehr ein vollständig eigenartiger Stoff, der wohl den Eiweisskörpern nahe steht, aber mit keiner der bisher dargestellten Stoffe identisch ist.

Das Paralinin steht jedenfalls den Globulinsubstanzen am nächsten. Es ist löslich in 10proc. Kochsalz, unlöslich, wenn auch etwas quellbar, in gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia, unlöslich in verdünnter Essigsäure; in concentrirten Säuren wird es in eine Acidalbumingallerte verwandelt, bedenklich erscheint jedoch sein Verhalten in Monokaliumphosphat, in welchem es nicht vollständig unlöslich ist wie die Globuline, und ferner sein Verhalten gegen Salzsäure von 1%, in welchem Globulin löslich, das Paralinin unlöslich ist, aber doch quellbar.

Gegen die Auffassung als Albumin spricht die geringe Löslichkeit in 20proc. Kochsalz und gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia, die Unlöslichkeit in verdünnter und concentrirter Essigsäure und in verdünnter Salzsäure (von 1%). Gegen Albuminat spricht die Löslichkeit in Kochsalz von 10%, die Unlöslichkeit in concentrirteren Säuren.

Gegen Albuminosen spricht die Unlöslichkeit in heissem Wasser, in verdünnter Essigsäure und Salzsäure, sowie die Fällbarkeit durch schwefelsaures Kupfer.

Wir sehen demnach, auch das Paralinin ist nicht in eine bestimmte Kategorie der bisher dargestellten Stoffe einzureihen, wenn es auch den Globulinen sehr nahe steht.

Bemerkenswerth wäre noch, dass die Nucleine in manchen Reactionen, so z. B. gegen Dinatriumphosphat, verdünnte Essigsäure, sehr verdünnte Salzsäure, Kupfersulfat den Globulinen nahe stehen, so dass man möglicherweise an eine Verwandtschaft beider denken könnte.

Ziehen wir das Resumé aus dieser Betrachtung, so kommen wir zu der Ansicht, dass bei den bisherigen chemischen Untersuchungen Stoffe gewonnen wurden, welche den in der Pflanze vorhandenen ähnlich, aber nicht gleich sind. Ist dies vorerst nur ein negatives Resultat, so hoffe ich jedoch, dass meine Arbeit dazu beitragen wird die Anschauung zu begründen, dass man bei der Darstellung von Proteinstoffen in erster Linie auch auf den mikroskopischen Befund Rücksicht zu nehmen hat und nur im Anschluss an diesen zu Körpern gelangt, welche im Organismus wirklich vorkommen.

Figurenerklärung.

Die Figuren sind, wenn nichts besonderes angegeben ist, bei einer 1450fachen Vergrösserung gezeichnet (Zeiss' homogene Immersion $1/_{12}$ Ocular IV). Die jeder Figurenerklärung beigefügte Seitenzahl weist auf die Stelle des Textes hin, wo das betreffende Bild besprochen ist.

Tafel I. Chlorophyllkörper.

Fig. 1. *Fittonia Verschaffelti.* Quellung in Wasser, die Grana haben sich in der grünen Masse vertheilt, sind noch als dunklere Stellen sichtbar (pag. 44).

Fig. 2. (Vergr. 1100.) *Ruscus aculeatus.* Chlorophyllkörper aus einem alten Phyllodium. Quellung in Wasser ohne Vacuolenbildung. Sichtbarwerden von Oeltröpfchen (pag. 44).

Fig. 3a. *Tradescantia zebrina.* Chlorophyllkörper aus einem älteren Stengelinternodium. Unverletzte Zelle (pag. 45).

Fig. 3b, c. Dsgl. Deutlichwerden der Fibrillen bei kurzer Wasserwirkung (pag. 46).

Fig. 3d. Dsgl. Längere Wasserwirkung. Uebergang zur Vacuolenbildung (pag. 46).

Fig. 3e. Dsgl. Längere Wasserwirkung, Vacuolenbildung (pag. 46).

Fig. 4. *Galanthus nivalis.* Quellung in Wasser. Bildung von Vacuolen (pag. 46).

Fig. 5. *Mnium undulatum.* Quellung und Vacuolenbildung in Wasser (pag. 46).

Fig. 6. *Phajus grandifolius.* Knolle. Quellung in Wasser. Die Vacuolen enthalten nicht nur die Zwischensubstanz, sondern auch den gelösten Eiweisskrystall (pag. 46).

Fig. 7. *Platanthera bifolia.* Kurze Quellung der Chlorophyllkörper des Blattes in Wasser, Fixirung mit schwacher Jodlösung. Die Fibrillen sind auseinander gewichen, die Zwischensubstanz hat sich schwach gelblich gefärbt (pag. 47).

Fig. 8. *Allium porrum.* Kurze Quellung in Wasser, hierauf mit Flemming'scher Mischung fixirt. Quellung der Grundsubstanz mit Erhaltung der Fibrillen (pag. 47).

Fig. 9—12. *Tradescantia virginica.* Verschiedene Stadien kurz dauernder Wasserwirkung (5 Minuten), durch Flemming'sche Mischung fixirt, mit Saffranin gefärbt. Fig. 11, 12, 13 Auseinanderweichen der Fibrillen, Fig. 14 vollständige Trennung derselben (pag. 47).

Fig. 13—15. *Tradescantia virginica.* Die Chlorophyllkörper wurden, nachdem sie 2 Stunden in Wasser gelegen, mit Flemming'scher Mischung fixirt, mit Saffranin gefärbt (pag. 47).

Fig. 16. *Impatiens parviflora.* Kurze Quellung in Wasser, Beginn der Vacuolenbildung; fixirt mit Flemming'scher Mischung (pag. 47).

Fig. 17. Dasselbe in einem etwas weiter fortgeschrittenen Stadium (pag. 47).

Fig. 18. *Tradescantia virginica.* Chlorophyllkörper in 20 % Zucker. Deutlichwerden der Grana (pag. 51).

Fig. 19, 20. *Oncidium altissimum.* Behandlung mit 20 % Zucker. Grana sind sichtbar oder nicht (pag. 51 und 52).

Fig. 21. *Plectogyne variegata.* Chlorophyllkörper in der unverletzten Zelle. Ein analoges Bild erhält man bei dem Einlegen in Phosphorwolframsäure.

Fig. 22, 23. *Plectogyne variegata.* Behandlung mit 40 % Zucker. Die Chlorophyllkörper sind etwas gequollen, die Grana undeutlich geworden (pag. 52).

Fig. 24. *Tradescantia virginica.* In 20 % Kochsalz. Es hat keine Quellung stattgefunden, die Grana sind deutlich (pag. 55).

Fig. 25. *Fittonia Verschaffelti.* Unverletzte Chlorophyllkörper in 10 % Kochsalz. Ansicht von oben (pag. 55).

Fig. 26. Dasselbe. Durchschnittsansicht (pag. 55).

Fig. 27. *Fittonia Verschaffelti.* In 10 % Kochsalz, verletztes Chlorophyllkorn, Sichtbarwerden der Fibrillen (pag. 55).

Fig. 28. Dsgl. Nach 24stündigem Verweilen in 10 % Kochsalzlösung, welcher etwas Wasser zugesetzt war (pag. 55).

Fig. 29. *Plectogyne variegata.* Quellung in 10 % Kochsalz mit nachträglicher Fixirung durch Jodkalium. Die dunkleren Punkte sind Stärkeeinschlüsse (pag. 56).

Fig. 30—33. *Scilla maritima.* Verschiedene Stadien der Quellung in 2 % Kochsalz. Fig. 30—32 theilweises Sichtbarwerden der Fibrillen, Fig. 33 Quellung der Fibrillen mit Andeutung der Grana (pag. 56).

Fig. 34. (Vergr. 1100.) *Mnium undulatum.* Chlorophyllkörper in unverletzten Zellen, sie sind hellglänzend, lassen keine Struktur erkennen.

Fig. 35. (Vergr. 1100.) Dsgl. Chlorophyllkörper in 20 % Kochsalz liegend. Quellung sehr gering (pag. 55).

Fig. 36. (Vergr. 1100.) Dsgl. In 10 % Kochsalz sind die Chlorophyllkörper etwas gequollen, sie sind ziemlich homogen durchsichtig, lassen die Stärkekörner erkennen (pag. 56).

Fig. 37. (Vergr. 1100.) Dsgl. Nach 5stündigem Liegen in einer Kochsalzlösung von 4 % haben sich die Fibrillen von einander getrennt, a. Flächenansicht, b. Durchschnitt (pag. 56).

Fig. 38. *Mnium rostratum.* Die Blätter waren einem sehr starken Frost (—80° C.) ausgesetzt, nach dem Aufthauen sind die Fibrillen auseinandergesprengt a, b oder auch selbst gequollen c (pag. 48).

Fig. 39—40. *Calathea insignis.* Quellung in 4 % Kochsalz. Fig. 39 unverletztes, Fig. 40 verletztes Chlorophyllkorn (pag. 57).

Fig. 41. *Tradescantia virginica.* Ein unverletztes Chlorophyllkorn nach 2tägigem Liegen in 4 % Kochsalz. Die Fibrillen sind deutlich erkennbar, aber nicht auseinander gewichen (pag. 57).

Fig. 42. *Phajus grandifolius.* Knolle. Chlorophyllkörper in kaltgesättigter Lösung von schwefelsaurem Ammoniak. Eiweisskrystall verschwunden, die übrige Substanz unlöslich und ungequollen (pag. 57).

Fig. 43, 44. *Oncidium altissimum* in 1 % KH_2PO_4. Fig. 43 Fibrillen sind deutlich, die Zwischensubstanz hat sich in der Vacuole angesammelt; Fig. 44 gleichmässig trübe Quellung (pag. 58).

Fig. 45. *Fittonia Verschaffelti.* Verletzter Chlorophyllkörper in 5 % KH_2PO_4 (pag. 59).

Fig. 46. *Phajus grandifolius.* Knolle. Einwirkung von 5% KH_2PO_4. Der Eiweisskrystall, zuerst die Vacuole bildend, wird später gelöst, die übrige Substanz wird ohne besonders deutliche Struktur fixirt (pag. 59).

Fig. 47—49. *Calathea insignis.* Verschiedene Formen der Quellung in 5% Na_2HPO_4 (pag. 59).

Fig. 50. *Phajus grandifolius.* Einwirkung von Kalkwasser auf die Chlorophyllkörper. Dieselben quellen gleichmässig trübe auf (pag. 60).

Fig. 51. *Fittonia Verschaffelti.* Verletzter Chlorophyllkörper in Kalkwasser (pag. 60).

Fig. 52. Dsgl. Unverletztes Chlorophyllkorn in Kalkwasser mit nachträglicher Fixirung durch Flemming'sche Mischung. Vor der Fixirung hatte das Chlorophyllkorn ein ähnliches Aussehen (pag. 60).

Tafel II. Chlorophyllkörper.

Fig. 53—55. *Impatiens parviflora.* Aussehen und Grössenverhältniss der Chlorophyllkörper vor und nach der Behandlung mit Kalilauge. Fig. 53 die Chlorophyllkörper in der unverletzten Zelle, Fig. 54 nach Behandlung mit concentrirter, Fig. 55 mit 1procentiger Kalilauge (pag. 61).

Fig. 56. (Vergr. 1100.) *Mnium undulatum.* Einwirkung von concentrirter Kalilauge. Die hellen Stellen im Innern der Chlorophyllkörper sind die gequollenen Stärkekörner, Proteinsubstanz nicht gequollen (pag. 61).

Fig. 57. *Oncidium altissimum.* Einwirkung von concentrirter Kalilauge. Die Stärkekörner gequollen, die Proteinsubstanzen nicht (pag. 61).

Fig. 58. *Phajus grandifolius.* Knolle. Aufquellen in 0,1% Kalilauge (pag. 61).

Fig. 59, 60. *Fittonia Verschaffelti.* Einwirkung von 0,2% Essigsäure. Bei Fig. 59 die Fibrillen schon auseinandergewichen, bei Fig. 60 Beginn der Vacuolenbildung (pag. 63).

Fig. 61. *Vicia sativa.* Chlorophyllkörper des Stengels, die in geringer Anzahl vorhandenen Fibrillen sind durch 0,2% Essigsäure sichtbar gemacht worden (pag. 63).

Fig. 62, 63. *Phajus grandifolius.* Knolle. Einwirkung von 3% Essigsäure. Bei Fig. 62 Vacuolenbildung, bei Fig. 63 gleichmässiges Quellen mit Ausscheidung von Chlorophyllan im Innern (pag. 64).

Fig. 64. *Fittonia Verschaffelti.* Die Chlorophyllkörper nach 24stündigem Liegen in 10% Essigsäure. Ausscheidung von Chlorophyllan in feinen Tropfen. (pag. 64).

Fig. 65. Dsgl. Nach 24stündigem Liegen in 50% Essigsäure. Ausscheidung des Säurechlorophylls in Form von braunen Kugeln, während die übrige Masse entfärbt ist (pag. 64).

Fig. 66, 67. *Phajus grandifolius.* Knolle. Behandlung mit 50% Essigsäure. Ausscheidung von Säurechlorophyll. Fig. 66 nach kurzer Einwirkung, Fig. 67 nach 4 Stunden (pag. 64).

Fig. 68. *Fittonia Verschaffelti.* Quellung in 0,1% Salzsäure. Die Granareste sind noch als dunklere Stellen erkennbar (pag. 65).

Fig. 69. Dsgl. Quellung in 1% Salzsäure. Die Substanz ist ganz durchsichtig geworden (pag. 66).

Fig. 70. (Vergr. 1100). *Mnium undulatum.* Quellung in 0,1% Salzsäure (pag. 65).

Fig. 71. *Fittonia Verschaffelti.* Kurze Einwirkung von 20% Salzsäure. Die Chlorophyllkörper sind nicht gequollen, lassen undeutlich dunklere Stellen erkennen (pag. 68).

Fig. 72. *Vallisneria spiralis.* Chlorophyllkörper nach einstündigem Verweilen in 20% Salzsäure, kurze Zeit erwärmt (pag. 68).

Fig. 73. Dsgl. In 20% Salzsäure, etwas erwärmt nach achtstündigem Liegen in der Salzsäure. (pag. 68).

Fig. 74. *Impatiens parviflora.* Zwanzigstündige Einwirkung von 20% Salzsäure. Dieselben Bilder erhält man jedoch auch schon kürzere Zeit nach dem Einlegen (pag. 69).

Fig. 75. *Vallisneria spiralis.* Präparat von Fig. 72 mit Alkohol behandelt (pag. 69).

Fig. 76. Dsgl. Die Chlorophyllkörper hatten sich $\frac{3}{4}$ Stunden in Wasserdampf, 6 Stunden in 20% Salzsäure befunden (pag. 69).

Fig. 77. *Phajus grandifolius.* Knolle. Sechszehnstündige Einwirkung von 20% Salzsäure ohne Erwärmung. Ausscheidung von Säurechlorophyll im Innern. Der Eiweisskrystall ist ausgetreten, dann allmälig erstarrt (pag. 69).

Fig. 78. (Vergr. 1100.) *Mnium undulatum.* Behandlung mit concentrirter Salzsäure. Die helle Stelle in dem einen Chlorophyllkorn ist durch ein Stärkekorn bedingt (pag. 70).

Fig. 79, 80. *Fittonia Verschaffelti.* Einwirkung von concentrirter Salzsäure; Fig. 79 kurze Behandlung, Fig. 80 nach 20 Stunden (pag. 70).

Fig. 81. *Vallisneria spiralis.* Behandlung des Chlorophyllkörpers mit Wasserdampf, die helleren Stellen sind gequollene Stärkekörnchen (pag. 70).

Fig. 82—87. *Phajus grandifolius.* Verschiedene Stadien der Einwirkung concentrirter Salzsäure (pag. 70).

Fig. 88. *Phajus grandifolius.* Mit Alkohol fixirte Chlorophyllkörper nach 40stündiger Trypsinverdauung (pag. 73).

Fig. 89. *Phajus grandifolius.* Nach viertägigem Liegen in gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia erfolgte Ausscheidung von Tropfen eines Chlorophyllderivates (pag. 57).

Fig. 90, 91. *Phajus grandifolius.* Die Chlorophyllkörper wurden 5—10 Minuten in Wasser gekocht, wodurch ölige Tropfen zur Ausscheidung gelangen (pag. 50).

Tafel III. Zellkerne.

(Die Figuren 92—101, 104—106, 114—120 rühren von Objecten her, welche mit Flemming'scher Mischung fixirt und nach Gram'scher Methode mit Methylviolett gefärbt wurden. Nach der Färbung wurden dieselben in Nelkenöl und Canadabalsam übertragen.)

Fig. 92. *Vicia faba.* Knäuelform eines Zellkerns aus der Wurzel eines Keimlings (pag. 82).

Fig. 93. Dsgl. Kern nach der Theilung. Die Fäden der karyokynetischen Figur zerfallen in Körnchen, diese vertheilen sich in dem wachsenden Gerüst. Der Nucleolus ist relativ grösser geworden (pag. 82).

Fig. 94. *Vicia faba.* Ruhender Kern aus einem jungen Internodium des Keimlingsstengels. Ausser den kleinen Chromatinkörnchen des Gerüstes sind noch grössere Chromatinkugeln vorhanden. Der grösste gefärbte Körper des Kernes ist der Nucleolus (pag. 82).

Fig. 95. *Vicia sativa.* Normaler ruhender Kern aus einem Internodium des Keimlings (pag. 87).

Fig. 96. Dsgl. im Hungerzustande (pag. 87).

Fig. 97. *Lupinus luteus.* Kern aus dem Hypocotyl. Trotz des Jugendzustandes ist nur eine verhältnissmässig geringe Menge von Chromatin vorhanden (pag. 85).

Fig. 98. *Cymbidium aloefolium.* Zellkern aus einem älteren Blatte, derselbe enthält ausser dem Chromatin der Gerüstfäden, ziemlich viel grössere Chromatinkugeln, die sich in der Färbung und dem Aussehen von dem Nucleolus nicht wesentlich unterscheiden (pag. 85).

Fig. 99. *Scilla maritima.* Normaler Kern aus dem Blatte, die einzelnen Gerüstfibrillen mit den Chromatineinlagerungen sind gut ausgebildet (pag. 85).

Fig. 100. Dsgl. Nach 24stündiger Verdauung in Trypsin (pag. 119).

Fig. 101. Dsgl. Chlorophyllkörper nach 24stündiger Verdauung in Trypsin (pag. 73).

Fig. 102, 103. *Impatiens parviflora.* Kerne aus älteren Internodien nach Fixirung mit Flemming'scher Mischung. Die stärker hervortretenden Körnchen bestehen aus Chromatin. Das Präparat war nicht tingirt (pag. 85).

Fig. 104a, b. *Phaseolus multiflorus.* Kerne aus einem alten Internodium einer Keimpflanze, welche 4 Monate im Dunkeln gestanden hatte. Bei Fig. 104b ist die Reduction des Chromatins etwas weiter fortgeschritten als bei Fig. 104a (pag. 87).

Fig. 105. *Phajus grandiflorus.* Kern aus der Knolle. Chromatinvertheilung im Kern (pag. 85).

Fig. 106. Dsgl. Nach $1\frac{1}{2}$stündiger Verdauung in Trypsin ebenfalls nach Gram'scher Methode mit Methylviolett gefärbt (pag. 118).

Fig. 107. Dsgl. Verdauung in Pepsin-Salzsäure von 45° C. nach 1 Stunde. Die Chromatinkugeln sind vacuolig geworden. Das Präparat war ungefärbt (pag. 121).

Fig. 108. Dsgl. Kerne nach 5stündiger Verdauung in Pepsin-Salzsäure. Der Kern ist verkleinert, es sind Tropfen ausgetreten. Die Struktur ist undeutlich (pag. 121).

Fig. 109. Dsgl. Normaler Kern aus der Knolle nach Fixirung mit Flemming'scher Mischung, gezeichnet nach einem in Wasser liegenden Präparat. Es treten hier die Gerüstfibrillen und die Kernmembran besser hervor, als bei den vorher mit Nelkenöl behandelten und in Canadabalsam eingebetteten Objecten (pag. 85).

Fig. 110. Dsgl. Kerne nach der Behandlung mit gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia. Die Gerüstfibrillen und das Kernkörperchen treten deutlich hervor, die Chromatinkugeln sind gelöst (pag. 104).

Fig. 111. Dsgl. Kerne nach der Behandlung mit Ferrocyankalium und Essigsäure. Das Chromatin ist gelöst, die Nucleolen treten scharf hervor, die übrige Struktur ist undeutlich (pag. 115).

Fig. 112. Dsgl. Kern in 50 % Essigsäure, die grösseren Chromatinkugeln treten scharf hervor, die beiden Nucleolen sind ziemlich durchsichtig, ebenso die Kernmembran (pag. 110).

Fig. 113. Dsgl. Die Kerne in Wasser gekocht. Die Chromatinkugeln sind erhalten geblieben, die Gerüstfibrillen sind undeutlich geworden, der Kern im Ganzen etwas geschrumpft (pag. 98).

Fig. 114. *Hyacinthus orientalis.* Kern aus einer älteren in Wasser gewachsenen Wurzel. Dieser der Wurzelspitze entnommene Kern zeigt ein dichteres Fibrillengerüst mit zahlreichen Chromatinkörnchen (pag. 82, 85).

Fig. 115. Dsgl. Kern aus der Wurzelbasis. Derselbe ist bedeutend chromatinärmer (pag. 85).

Fig. 116. *Hyacinthus orientalis.* Kern aus dem Blumenblatt. Durch die Behandlung mit schwefelsaurem Kupfer (5 Tage) ist das Gerüst und die übrigen Substanzen erhalten geblieben, das Chromatin gelöst (pag. 116).

Fig. 117—120. Desgl. Verschiedene Stadien der Trypsinverdauung. Bei Fig. 117 und 118 erfolgt partielle Lösung des Chromatins, bei Fig. 119 ist das Chromatin in Tropfenform ausgetreten, durch die Flemming'sche Mischung jedoch fixirt, in Fig. 120 ist der nach der Lösung des Chromatins zurückbleibende, nach Gram'scher Methode nicht mehr tingirbare Rest gezeichnet. Fig. 120 wurde in derselben Weise behandelt, ohne sich jedoch zu färben (pag. 118, 119).

Tafel IV. Zellkerne.

Fig. 121. (Vergr. 860.) *Pisum sativum.* Kern aus dem Rindenparenchym des Epicotyls in Wasser, Kernmembran geplatzt, Inhalt des Kernes austretend (pag. 90).

Fig. 122. (Vergr. 860.) Dsgl. Derselbe Kern nach der Behandlung mit einer 20procentigen Zuckerlösung (pag. 90).

Fig. 123a—e. (Vergr. 860.) *Pisum sativum.* Kerne aus der Wurzel eines Keimlings, 1—2 mm von der Spitze entfernt. Allmähliges Aufquellen innerhalb verletzter Zellen. Fig. 123a Beginn der Wasserwirkung, Fig. 123e Endstadium (pag. 91).

Fig. 124a—c. *Triticum vulgare.* Kerne aus dem Endosperm eines unreifen Samens beim Quellen in Hühnereiweiss. Fig. 124a homogener nicht gequollener Kern, b und c gequollene Kerne (pag. 91).

Fig. 125. (Vergr. 860.) *Pisum sativum.* Kerne aus dem Rindenparenchym des jungen Keimlingsstengels, 69 mm vom Vegetationspunkt entfernt. Quellung in Wasser unter Bildung von Randvacuolen (pag. 92).

Fig. 126. (Vergr. 860.) Dsgl. Das in Fig. 125 abgebildete Object, nach Zusatz von 10 % Kochsalz, Fällung der Kernstoffe (pag. 92).

Fig. 127. (Vergr. 1150.) *Allium cepa*, erste fleischige Schale von aussen, Kerne bei der Einwirkung von Wasser (pag. 92).

Fig. 128—131. *Hyacinthus orientalis.* Kerne aus jungen Blumenblättern, bei der Einwirkung von Wasser. Fig. 128 ungequollener Kern mit undeutlichem Fibrillengerüst. Fig. 129 Vacuolenbildung mit zurückbleibendem Fibrillennetz. Fig. 130 stärkeres Aufquellen der Zwischensubstanz, Fibrillen noch deutlich, Fig. 131 auch die Fibrillen verquollen (pag. 92, 93).

Fig. 132. (Vergr. 1150.) *Allium porrum.* Kerne aus dem in der Zwiebel eingeschlossenen Vegetationspunkt in Hühnereiweiss. Quellung mit Randvacuolenbildung (pag. 91).

Fig. 133—136. (Vergr. 1150.) *Solanum tuberosum.* Verschiedene Formen der Wasserwirkung an den Kernen eines älteren Internodiums. Fig. 133 Bildung von Vacuolen innerhalb des Kerns; Fig. 134 Quellung mit zurückbleibenden Gerüstfibrillen; Fig. 135 ungequollener Kern; Fig. 136 Schrumpfung des Kerninhalts, Kernmembran abgehoben (pag. 96, 97).

Fig. 137. (Vergr. 1150.) *Solanum tuberosum.* Kerne aus einem jungen im Winter aus den Knollen getriebenen Spross bei der Einwirkung von Wasser. Der ganze Kerninhalt ist verquollen (pag. 97).

Fig. 138. (Vergr. 1150.) Dsgl. Dasselbe wie Fig. 137, die Quellung ist jedoch noch nicht so weit vorgeschritten, man erkennt am Rande noch einzelne Fäden und Körnchen (pag. 97).

Fig. 139. *Aconitum lycoctonum*, älteres Internodium. Der Kern zeigt unter der Einwirkung des Wassers eine bedeutendere Quellung der Grundsubstanz, ob die sichtbaren Fibrillen den ursprünglichen entsprechen, ist fraglich (pag. 93).

Fig. 140. (Vergr. 1150.) *Solanum tuberosum.* Kern aus der Knospe einer Knolle, unter der Einwirkung von Wasser. Bildung einer centralen Vacuole, in welcher der Nucleolus schwimmt (pag. 96, 97).

Fig. 141—143. *Beta rubra.* Kerne aus Epidermiszellen junger Blätter, bei der Einwirkung von Wasser. In Fig. 141 und 143 wurde eine centrale Vacuole gebildet, bei Fig. 142 und 143 hat sich die Kernmembran abgehoben (pag. 96, 97).

Fig. 144. *Platanthera bifolia.* Theil einer Zelle mit contrahirtem Plasmakörper und Zellkern. Die Zelle war in 10proc. Kochsalzlösung abge-

storben, der Kerninhalt hatte sich von der Kernmembran ebenfalls zurückgezogen. Die Kernmembran erscheint porös (pag. 102).

Fig. 145. *Pisum sativum.* Kern aus dem Parenchym einer jungen Wurzel unter der Einwirkung von 1 proc. Monokaliumphosphat (pag. 105).

Fig. 146. *Vicia sativa.* Epicotyl. Quellung des Kerns in 5 proc. Monokaliumphosphat, Trennung von Fibrillen (pag. 105).

Fig. 147 a—c. (Vergr. 1000.) *Vitis vinifera.* Kerne aus unreifen Beeren in Wasser; Fig. 147 a ungequollener Zustand, b geringe Quellung, c Quellung mit Trennung der Fibrillen (pag. 97).

Fig. 148. *Vicia sativa.* Kern aus dem Epicotyl in Kalkwasser. Der Kerninhalt ist stark gequollen, das Kernkörperchen ist ebenfalls voluminös geworden, in seinem Innern ist eine Vacuole gebildet (pag. 107).

Fig. 149. Dsgl. Einwirkung von 5 proc. Monokaliumphosphat, Bildung einer centralen Vacuole, vgl. Fig. 146 (pag. 105).

Fig. 150. *Pisum sativum.* Kern aus einer jungen Wurzel bei der Behandlung mit concentrirter Kalilauge (pag. 108).

Fig. 151 a—c. *Vicia sativa.* Kerne aus dem Epicotyl unter der Einwirkung von 1 proc. Salzsäure. In Fig. 151 a ist die Quellung gering, die Chromatinkörnchen treten scharf hervor, bei b ist das Kernkörperchen homogen durchsichtig geworden (gelöst?), bei c sind die Chromatinkörnchen undeutlich geworden, der ganze Kern stärker gequollen (pag. 112, 113).

Tafel V. Cytoplasma.

Fig. 152. (Vergr. 520.) *Spirogyra sp.* Theil einer unveränderten Zelle in Wasser, Oberflächenansicht. Die Cytoplasmafäden sind sehr zart, enthalten kleine körnige Gebilde (pag. 133).

Fig. 153. (Vergr. 1150.) *Mnium undulatum.* Zwei unverletzte Zellen eines im Herbste untersuchten Blattes. Durch den Zellraum gehen feine Plasmafäden, welche kleine Oeltröpfchen enthalten (pag. 134).

Fig. 154. (Vergr. 520.) *Spirogyra sp.* Theil einer unverletzten, jedoch mit 10 °/₀ Kochsalz behandelten Zelle. Die Plasmafäden sind contrahirt, zu kleinen Kugeln und Bläschen zusammengelaufen, welche sich zumeist den Chlorophyllbändern anlegen (pag. 133 und 172).

Fig. 155, 156. (Vergr. 900.) *Ricinus sanguineus.* Sehr junge Zellen aus den unreifen Cotyledonen. Das Protoplasma dieser unverletzten Zellen ist theilweise fädig, enthält sehr kleine Oeltröpfchen. Die grösseren rundlichen Körper sind junge in Theilung begriffene Aleuronkörner (pag. 135).

Fig. 157. *Pisum sativum.* Unveränderte Zelle aus jungen Theilen einer Wurzel. Durch den Zellsaftraum gehen feine anastomosirende Cytoplasmafäden (pag. 136).

Fig. 158. (Vergr. 1100.) *Tradescantia virginica.* Unveränderte Zelle eines jungen Staubfadenhaares (pag. 136).

Fig. 159. (Vergr. 720.) *Phaseolus multiflorus.* Theil einer älteren Parenchymzelle aus dem Keimlingsstengel nach der Fixirung mit Flemming'scher Mischung. Das Cytoplasma zeigt relativ wenige feine Körnchen, die grösseren Körnchen sind kleine Stärkebildner. Man vergleiche hierzu die Niederschlagsbildung in Fig. 164, Taf. VI. (pag. 141).

Fig. 160. (Vergr. 720.) *Pisum sativum.* Parenchymzelle aus einem etwas älteren Internodium einer jungen Pflanze nach der Fixirung mit Flemming'scher Mischung. Fibrilläre Fällung des Cytoplasmas, die grösseren, etwas dunkleren Körper sind Stärkebildner. Man vergleiche hierzu die Niederschlagsbildung in Fig. 166, Taf. VI. (pag. 141).

Fig. 161. (Vergr. 720.) *Hyacinthus orientalis.* Zelle aus der Epidermis eines Blumenblattes nach Fixirung mit Ferrocyankalium und Essigsäure. Netzförmig-fibrilläre Fällungsstruktur (pag. 141).

Tafel VI. Niederschlags- und Vacuolenbildung nicht organisirter Substanzen.

Fig. 162. (Vergr. 940.) Niederschlag aus sehr verdünnter Lösung von β-Leim mit 6procentiger Gerbstofflösung (pag. 144).

Fig. 163. (Vergr. 940.) Niederschlag aus sehr verdünnter Lösung von β-Leim und 0,5procentiger Gerbstofflösung (pag. 144).

Fig. 164—168. (Vergr. 940.) Verschiedene auf einander folgende Stadien der Niederschlagsmembranbildung zwischen 8proc. Lösung von essigsaurem Kupfer und 10proc. Lösung von Ferrocyankalium (pag. 148).

Fig. 169. (Vergr. 940.) Niederschlagsmembran zwischen 2 % essigsaurem Kupfer in 12 % Gerbstoff (pag. 150).

Fig. 170. (Vergr. 465.) Kugeln aus gerbsaurem Leim, die innerhalb einer sog. künstlichen Zelle gebildet wurden. Die Entmischung der löslichen und unlöslichen Modification des gerbsauren Leims hat noch nicht stattgefunden (pag. 157).

Fig. 171. (Vergr. 465.) Dieselben Kugeln wie in Fig. 170, nachdem Entmischung (Vacuolenbildung) eingetreten ist (pag. 158).

Fig. 172. (Vergr. 26.) Ausstülpung einer Niederschlagsmembran aus gerbsaurem Leim mit Körnchenausscheidung in der Leimlösung (pag. 157).

Fig. 173. (Vergr. 465.) Niederschlagsmembran von gerbsaurem Leim mit Vacuolenbildung, rechts eine radial verlaufende Lamelle, welche durch das Aneinanderlegen zweier Membranfalten entstanden ist (pag. 158).

Tafel VII. Cytoplasma.

Fig. 174. *Pisum sativum.* Wenig verletzte Zellen der Wurzelspitze; unter der Einwirkung von Wasser sind Vacuolen gebildet, welche man hier in der Oberflächenansicht sieht (pag. 161).

Fig. 175. Dsgl. Quellung in Wasser, Querschnitt der Zelle. Die hellen Stellen sind Zellsafträume (pag. 162).

Fig. 176. (Vergr. 520.) *Brassica oleracea* var. *capitata* (Rothkraut). Verletzte Epidermiszelle in Hühnereiweiss liegend. Vacuolenbildung im Cytoplasma. Die dunkleren Körnchen sind kleine Stärkekörner (pag. 162).

Fig. 177. (Vergr. 1100.) *Tradescantia virginica.* Zwei Zellen aus einem Staubfadenhaar, nach 24stündigem Liegen in Hühnereiweiss. Bildung von Vacuolen im Cytoplasma (pag. 162).

Fig. 178. (Vergr. 720.) *Brassica oleracea* var. *capitata.* Epidermiszelle beim Absterben in Methylviolett. Das Cytoplasma ist schwach violett gefärbt, was in unserer Zeichnung nicht zum Ausdruck kommt (pag. 163).

Fig. 179, 180. (Vergr. 860.) *Hyacinthus orientalis.* Blumenblattzelle mit Ausfällungen aus dem Zellsaft. Fig. 179 nach Zusatz von verdünntem Alkohol (pag. 153), Fig. 180 in Alkohol absolutus (pag. 151).

Fig. 181. (Vergr. 1100.) *Tulipa Gesneriana.* Epidermis des Blumenblattes nach der Fixirung durch einen Inductionsstrom (pag. 153).

Fig. 182. *Rumex hamatus.* Eine Zelle des Blattstiels in 0,1proc. Kalilauge. Ausfällung aus dem Zellsaft mit nachfolgender Vacuolenbildung in der ausgefällten Substanz (pag. 152).

Tafel VIII. Cytoplasma.

Fig. 183. (Vergr. 800.) *Hyacinthus orientalis.* Unverletzte Blumenblattzellen. Ausscheidungen aus dem Zellsaft bei dem Einlegen der Zellen in gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia (pag. 152).

Fig. 184. (Vergr. 860.) Dsgl. Durch die gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia bewirkte Ausfällung aus dem Zellsaft, nach Verquellung des Cytoplasmas in 10procentiger Lösung dieses Salzes (pag. 152).

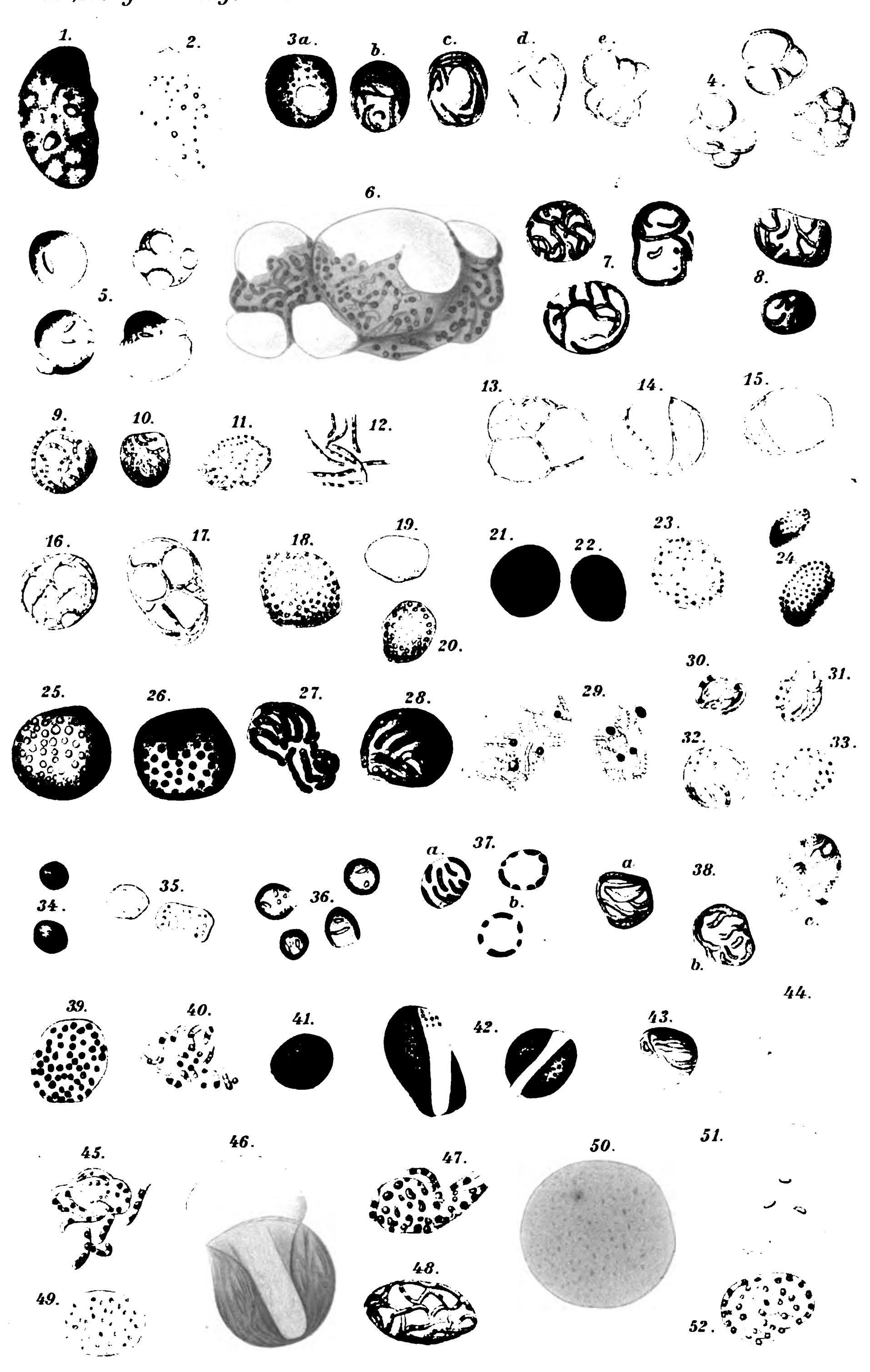
Fig. 185. (Vergr. 600.) *Cypripedium venustum.* Unverletzte Epidermiszelle eines jungen Blattes in Chloroformwasser. Ausfällung aus dem Zellsafte in Tropfenform und in Netzform (pag. 153).

Fig. 186. (Vergr. 645.) *Hyacinthus orientalis.* Unverletzte Zelle aus dem Blumenblatt nach längerem Liegen in 10procentiger Lösung von schwefelsaurer Magnesia (pag. 172).

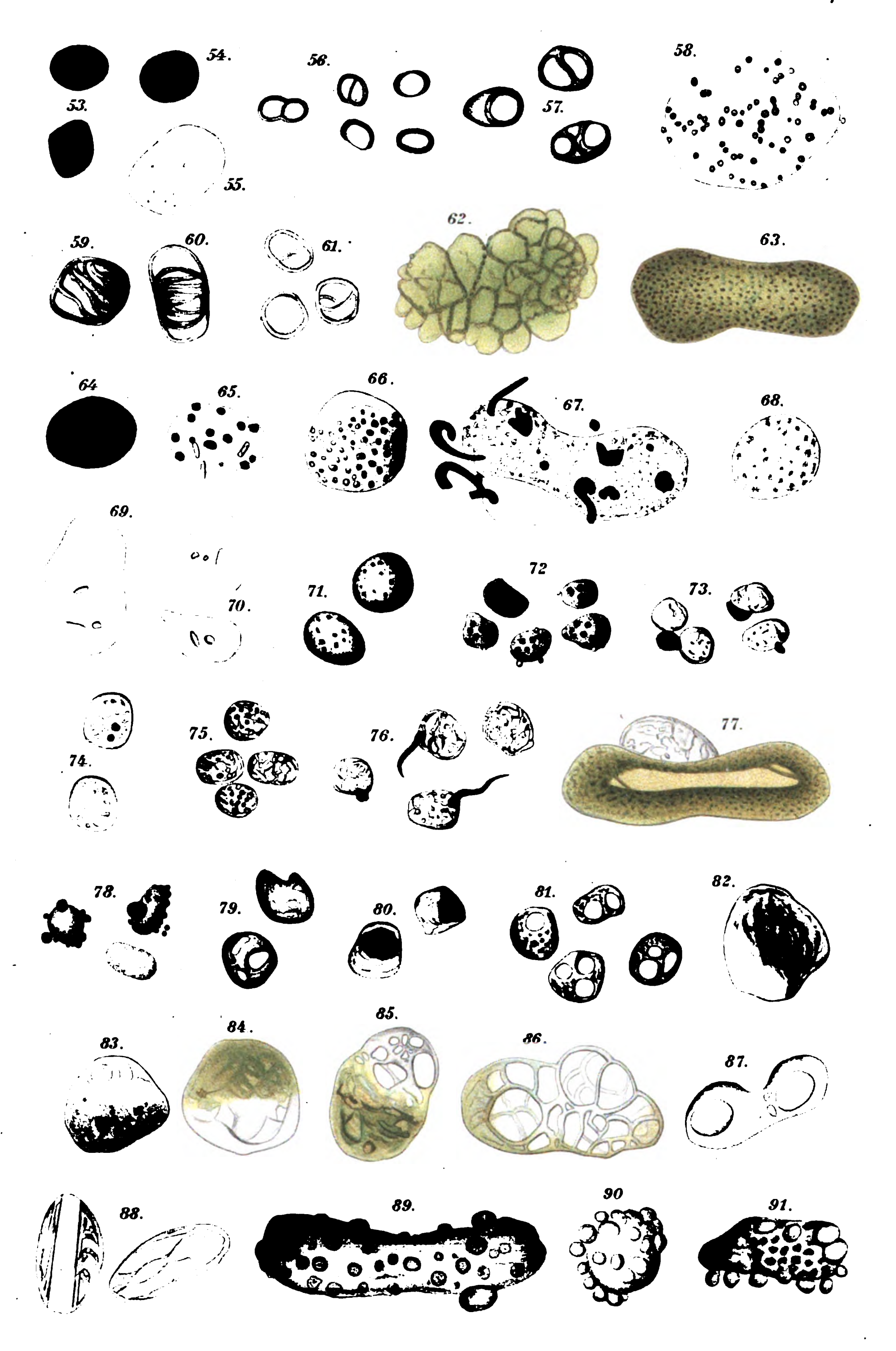
Fig. 187. (Vergr. 860.) *Brassica oleracea* var. *crispa.* Unverletzte Epidermiszelle nach 24stündigem Liegen in 10proc. Kochsalzlösung. Die Plastintheile sind durch den Farbstoff des Zellsaftes nicht gefärbt (pag. 171).

Fig. 188. (Vergr. 600.) Dsgl. Quellungsstadium des Cytoplasmas in 10 % Kochsalz. Das Cytoplasma zeigt hier erst kleine Vacuolen, welche aus dem Zellsaft Farbstoff aufgenommen haben. Zugleich Ausscheidung von Kugeln im Zellsaft (pag. 171).

Druck von Robert Nischkowsky in Breslau.

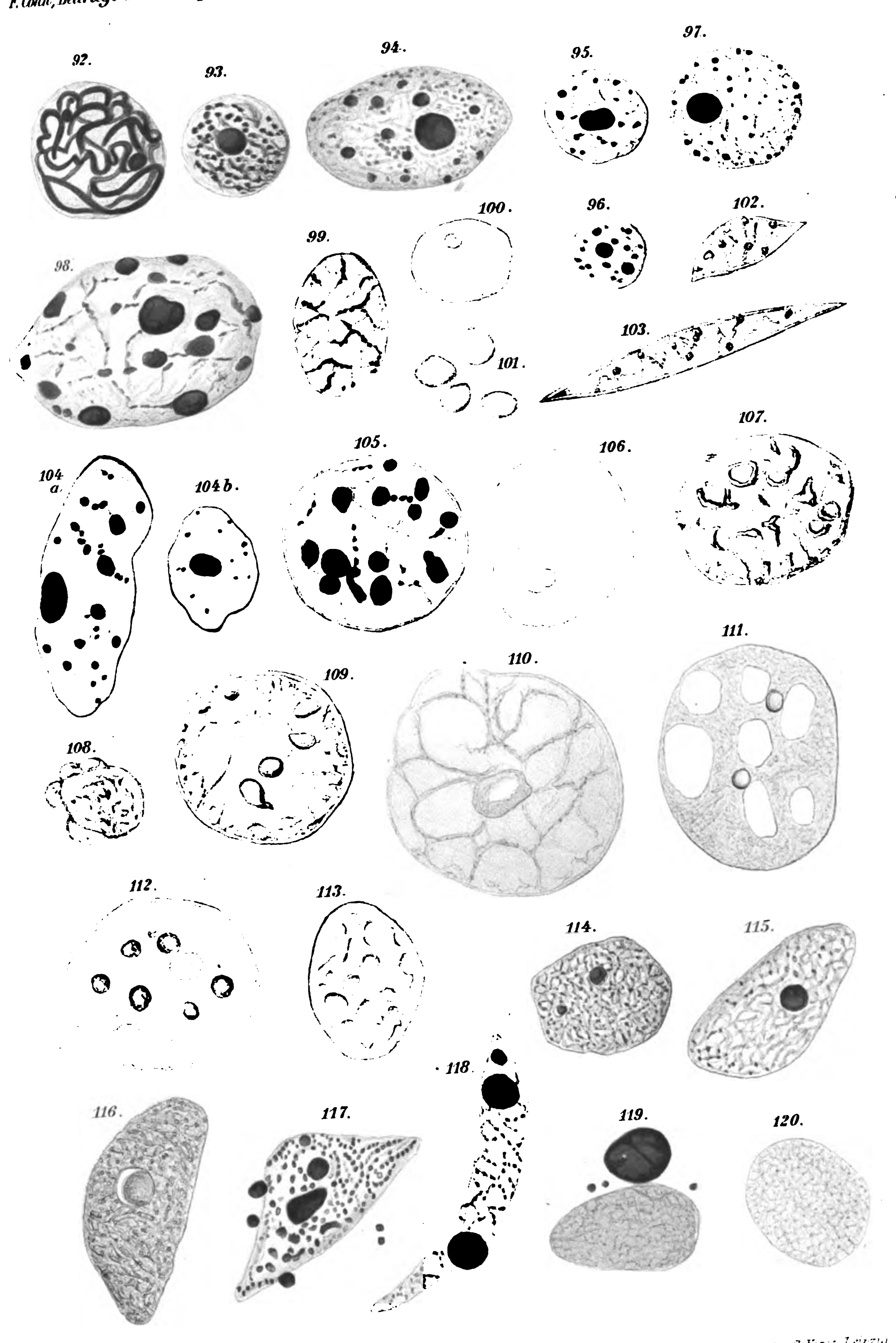


F. Schwarz gez. Lith. Anst. v. C. Kirst, Leipzig



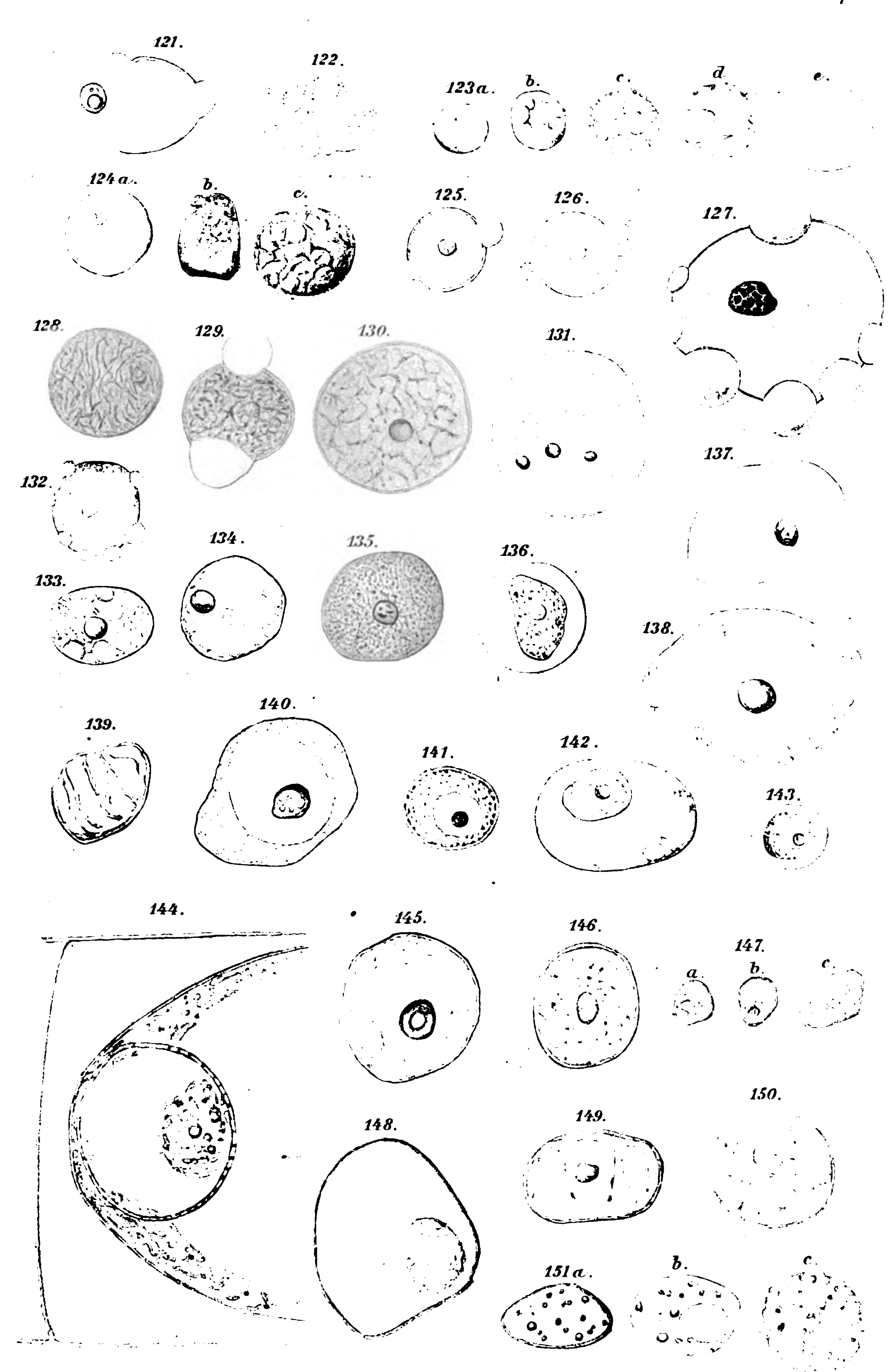
F. Schwarz gez.

Lith. Anst. v. C. Kirst, Leipzig

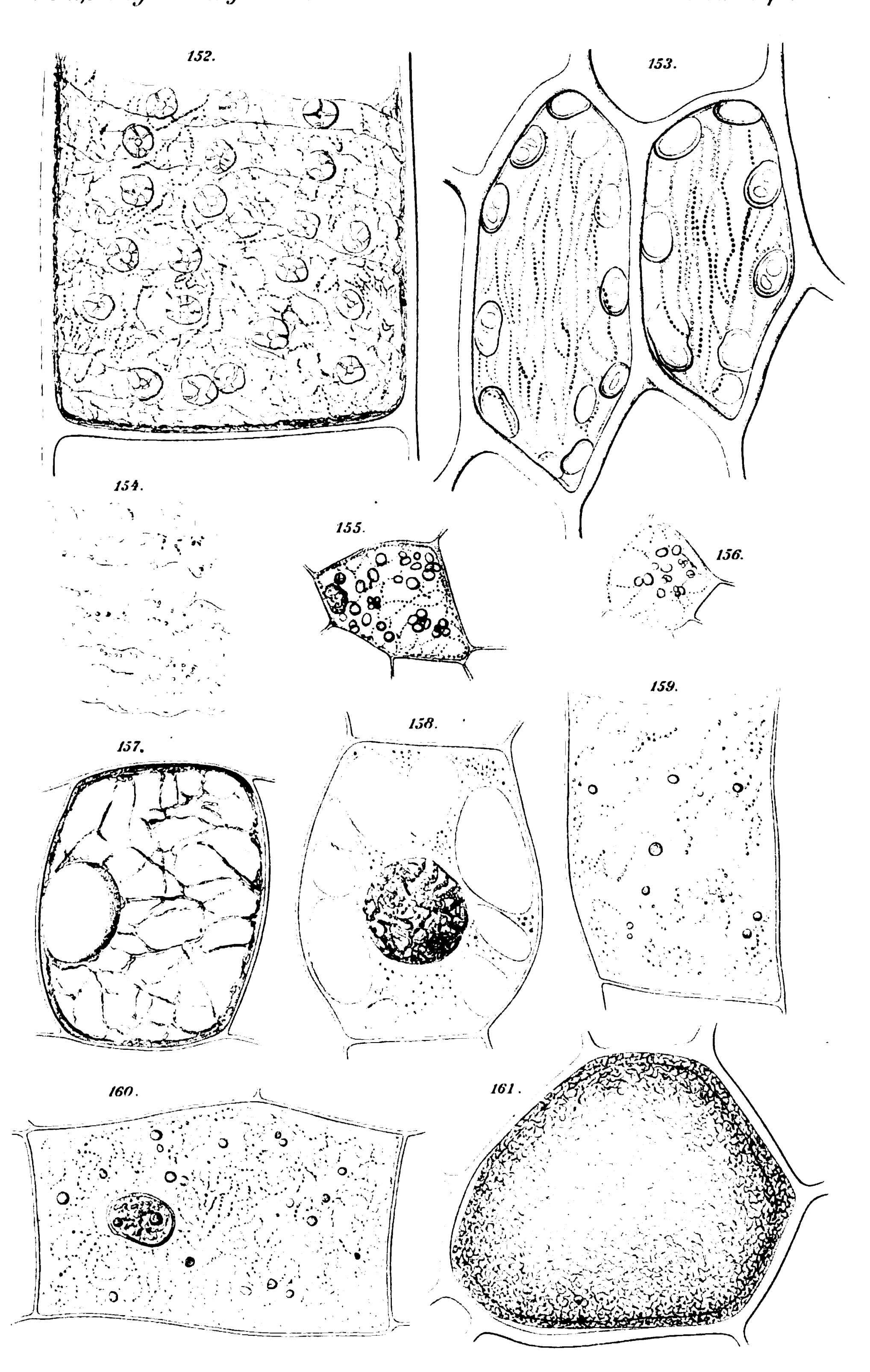


F. Schwarz gez.

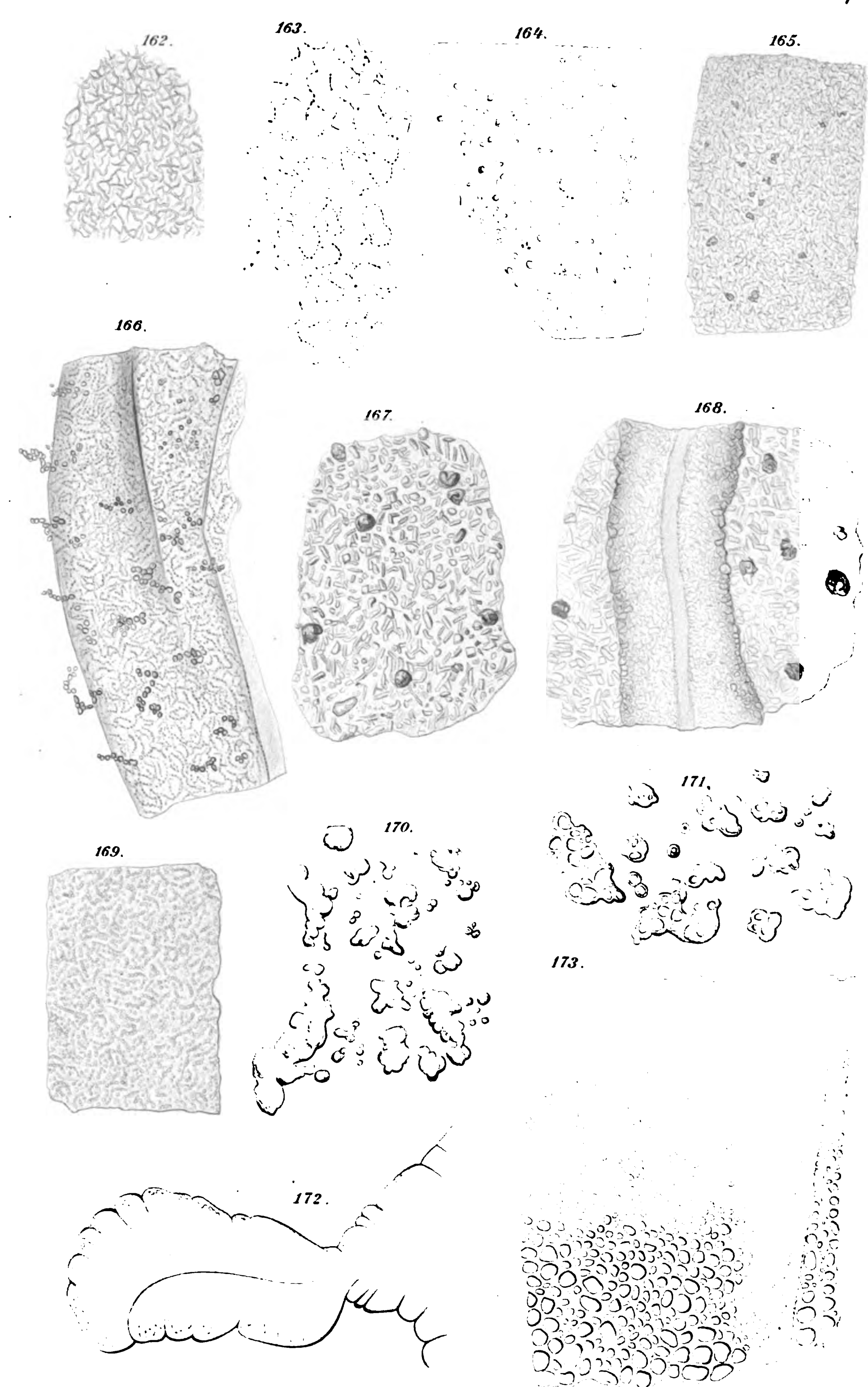
Lith. Anst. v. C. Kirst, Leipzig.



F. Schwarz gez. Lith. Anst. v. C. Kirst, Leipzig

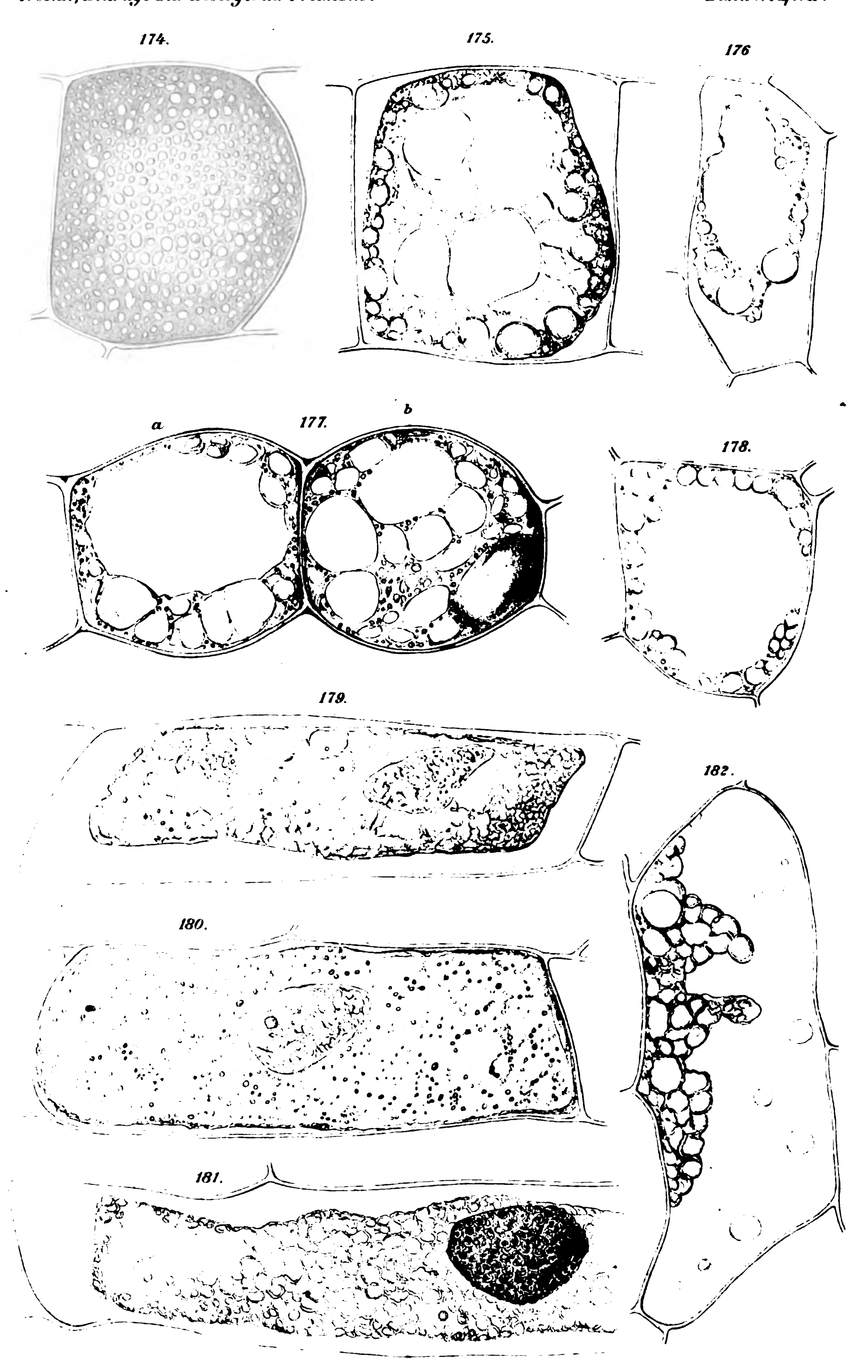


F. Schwarz gez. Lith. Anst. v. C. Kirst, Leipzig



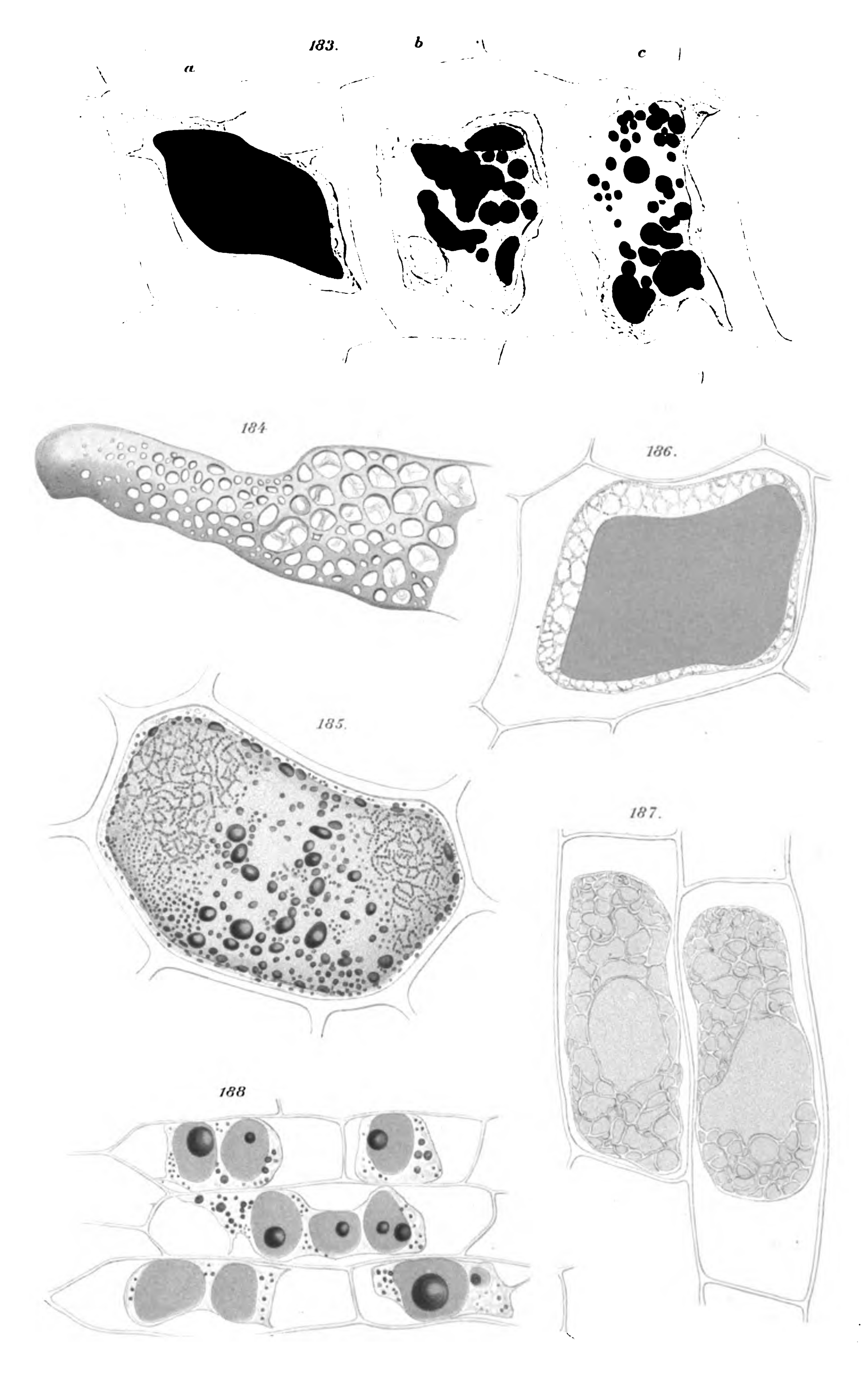
F. Schwarz gez.

Lith. Anst. v. C. Kirst, Leipzig.



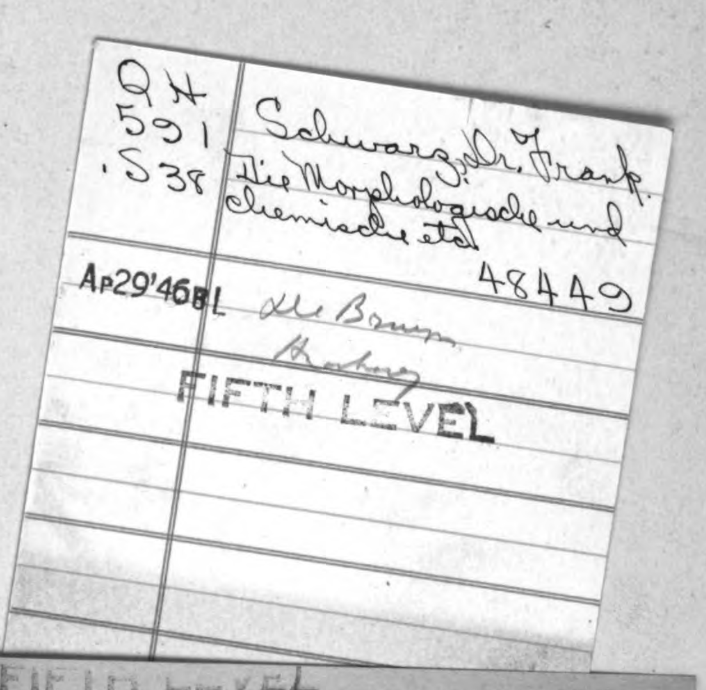
F. Schwarz gez.

Lith. Anst. v. C. Kirst, Leipzig



E. Schwarz gez. Lith. Anst. v. C. Kirst, Leipzig


UNIVERSITY OF CHICAGO
14 513 041


QH
591
.S38
Schwarz, Dr. Frank.
Die Morphologische und Chemische etc.
48449
Ap29'46BL
FIFTH LEVEL


U of Chicago
14513041